



Spectroscopie 2D de corrélation quantitative : Méthode de quantification, études expérimentales et applications in vivo

Dimitri Martel

► To cite this version:

Dimitri Martel. Spectroscopie 2D de corrélation quantitative : Méthode de quantification, études expérimentales et applications in vivo. Imagerie médicale. INSA de Lyon, 2015. Français. NNT : 2015ISAL0004 . tel-01278510

HAL Id: tel-01278510

<https://theses.hal.science/tel-01278510>

Submitted on 20 Sep 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

N° d'ordre 2015ISAL0004



Année 2015

Thèse

Spectroscopie 2D de corrélation quantitative: Méthode de quantification, Études expérimentales Et applications *in vivo*

Présentée devant

L'institut National des Sciences Appliquées de Lyon

Pour obtenir

Le grade de docteur

Formation doctorale : Ingénierie Biomédicale

Ecole doctorale : EEA de Lyon

Par

Dimitri MARTEL

Soutenue publiquement le 19 janvier 2015 devant la Commission d'examen

Jury

S. AKOKA	Professeur des Universités, Université de Nantes
G. GAMBAROTA	Professeur des Universités, Université Rennes 1
Y. LEFUR	Ingénieur de Recherche CNRS, Aix-Marseille Université
R. PROST	Professeur des Universités, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon
D. FRIBOULET	Professeur des Universités, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon
H. RATINEY	Chargé de Recherche CNRS Université Lyon 1

Remerciements

Résumé

En spectroscopie de résonance magnétique (SRM) *in vivo*, les principales méthodes utilisées permettent la quantification des concentrations de métabolites en utilisant des signaux à une dimension spectrale. Les travaux réalisés dans le cadre de cette thèse portent sur le développement de méthodes de SRM à deux dimensions spectrales (SRM 2D) de corrélation localisée afin d'accroître le pouvoir de résolution spectrale et la précision de la quantification de la SRM *in vivo*. Le premier axe de cette thèse concerne le développement d'une méthode fondée sur la spectroscopie 2D de corrélation localisée pour l'exploration des métabolites cérébraux. La séquence L-COSY (spectroscopie de corrélation localisée) est implantée sur imageur petit animal et étudiée. Une procédure de quantification dédiée aux signaux de corrélation acquis est développée. Cette dernière opère dans le domaine d'acquisition du signal, et s'appuie sur : 1) une connaissance a priori forte obtenue par simulation de l'effet quantique des séquences sur les spins des composés présents dans le spectre 2) un modèle de pondération lié aux effets de relaxation agissant sur le signal de SRM 2D. 3) une contrainte sur la relaxation liée aux effets d'inhomogénéités supposés toucher tous les spins de la même manière. Les résultats présentés s'attachent à étudier les performances quantitatives de la SRM 2D de corrélation, en comparaison à la SRM 2D dite J-résolue (avec la séquence JPRESS), de manière expérimentale, sur fantômes de métabolites mais aussi à travers la théorie des bornes de Cramér-Rao (CRBs). La quantification des signaux L-COSY, bien que défavorisée par une perte théorique du rapport signal sur bruit par unité de temps, présente des CRBs théoriques relatives du même ordre de grandeurs voire, pour certains métabolites couplés (e.g la glutamine, le GABA) plus petites que celles correspondantes à la spectroscopie J-résolue pour un même temps d'acquisition. Le second axe de cette thèse porte sur l'adaptation la SRM 2D de corrélation pour l'étude *in vivo* du métabolisme lipidique du foie et des tissus adipeux sous-cutanés sur un modèle de souris obèse à 7T. Cette application inédite montre la faisabilité de la SRM 2D de corrélation à être acquise sur un tel organe mouvant et sa capacité à être quantitative pour l'étude et la caractérisation des triglycérides hépatiques et sous-cutanées.

Mot clés : Spectroscopie de Résonance Magnétique 2D, Algorithme de quantification, Séquence RMN, Acquisition RMN *in vivo*, métabolites cérébraux, triglycérides, foie

Abstract

In *in vivo* Magnetic Resonance Spectroscopy (MRS), the main methods used allow metabolite concentration quantification using signals having one spectral dimension. This work focuses on the development of *in vivo* two dimensional correlated MRS in order to increase spectral resolution and quantification precision. The first axis is about the development of a method based on a 2D localized correlation MRS (L-COSY) for brain metabolite exploration. The L-COSY is implemented and studied on a small animal scanner. A dedicated quantification procedure operating in the acquisition domain is described. This latter is based on 1) a strong prior knowledge obtained by quantum mechanically simulate the effect of sequence on metabolite spin systems 2) a model function taking into account the relaxation weighting 3) constraints on the relaxation term linked to the field inhomogeneity effects which are assumed to act the same way on all the spins. Results are given experimentally using metabolites phantoms and through a comparison to other existing 2D MRS method, namely the J-resolved MRS (with the JPRESS sequence) using the Cramer Rao Lower Bounds (CRBs) theory. Although its inherent loss of signal to noise ratio is a disadvantage compared to J-PRESS, L-COSY quantification shows theoretically competitive relative CRBs, and even smaller CRBs for some coupled metabolites (e.g Glutamine or GABA), for an acquisition time similar to JPRESS. Second axis is about the adaptation of the 2D correlation MRS for the *in vivo* lipid metabolism study in the liver and subcutaneous adipose tissues of obese mice at 7T. This application shows the feasibility of 2D correlated MRS to be acquired on a moving organ and its quantitative relevance for triglyceride quantification and characterization in fatty liver and subcutaneous tissue.

Keywords: 2D Magnetic Resonance Spectroscopy, Quantification algorithm, NMR sequences, *in vivo* NMR acquisition, brain metabolite, triglycerides, fatty liver

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE	11
CHAPITRE 1 : SPECTROSCOPIE 2D QUANTITATIVE <i>IN VIVO</i> : BIBLIOGRAPHIE ET INTRODUCTION.....	14
I. INTRODUCTION.....	15
II. LE PHENOMENE DE RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE.....	17
1. INTRODUCTION.....	17
2. LE MAGNETISME NUCLEAIRE	18
3. LA FREQUENCE DE RESONANCE OU FREQUENCE DE PRECESSION DE LARMOR.....	19
4. RESONANCE ET NIVEAUX D'ENERGIE.....	20
5. SIGNAL RMN	21
6. ECHO DE HAHN	23
7. LE DEPLACEMENT CHIMIQUE :	25
8. LE PHENOMENE DE COUPLAGE SCALAIRE	26
III. APPLICATIONS DU PHENOMENE DE RMN.....	29
1. APPLICATION EN HAUTE RESOLUTION	29
2. APPLICATION <i>IN VIVO</i>	29
a) <i>Imagerie</i>	29
b) <i>Spectroscopie RMN Localisée</i>	30
c) <i>Facteurs perturbant les expériences de SRM proton in vivo</i> :.....	33
3. LA SPECTROSCOPIE A 2 DIMENSIONS DE FREQUENCE	34
4. APPLICATION DE LA SRM2D <i>IN VIVO</i>	37
5. SRM 2D J-RESOLUE :	41
6. SRM 2D DE CORRELATION :	41
7. ENCODAGE DE LA DIMENSION INDIRECTE :	42
IV. QUANTIFICATION:	44
1. SRM 1D.....	44
2. SRM 2D.....	46
3. ESTIMATION DE L'ERREUR DANS UN PROCESSUS DE QUANTIFICATION	48
4. DIMINUTION DE L'ERREUR EN SRM <i>IN VIVO</i>	49
V. APPROCHE QUANTIQUE DE LA SRM :	52
1. OPERATEURS QUANTIQUES DE SPIN.....	52
2. DESCRIPTION QUANTIQUE D'UNE SEQUENCE DE SPECTROSCOPIE.....	53
3. SIMULATION QUANTIQUE UTILISEE COMME CONNAISSANCE <i>A PRIORI</i> DANS LE PROCESSUS DE QUANTIFICATION	56
VI. CONCLUSION	58
CHAPITRE 2 : DEVELOPPEMENTS DE SEQUENCES ET D'OUTILS DEDIES A LA SPECTROSCOPIE 2D LOCALISEE..	60
INTRODUCTION.....	61
I. DEVELOPPEMENT DE SEQUENCE DE SPECTROSCOPIE DE CORRELATION LOCALISEE	62
1. L-COSY	62
a) <i>Caractéristiques de la séquence</i>	63

b) Implémentation.....	63
2. L-CTCOSY.....	69
3. JPRESS.....	71
4. PRETRAITEMENT DES SPECTRES 2D.....	72
5. REPRESENTATION DES SPECTRES 2D :.....	74
II. DEVELOPPEMENT D'UN ALGORITHME DE QUANTIFICATION DES SIGNAUX DE SPECTROSCOPIE 2D LOCALISEE	76
1. STRATEGIE ADOPTEE	76
2. BORNES DE CRAMER RAO.....	78
3. SIMULATION DES SEQUENCES DE SPECTROSCOPIE 2D.....	82
a) Base de métabolite simulée	83
b) Implémentation de la simulation	84
3. EFFET DES INHOMOGENEITES SUR LE SIGNAL ET LA QUANTIFICATION	85
CONCLUSION	87
 CHAPITRE 3 : APPLICATION DE LA SRM 2D QUANTITATIVE POUR L'EXPLORATION DES METABOLITES CEREBRAUX.....	88
INTRODUCTION.....	89
I. ARTICLE SOUMIS	90
1 INTRODUCTION.....	91
2 MATERIAL AND METHOD	92
2.1 2D LOCALIZED MRS SEQUENCES	92
2.2 MODEL FUNCTIONS, QUANTIFICATION PROCEDURE AND FISHER MATRIX FORMALISM	93
2.3 MR PROTOCOL.....	96
3 RESULTS	97
3.1 STUDY 1: RELAXATION PARAMETER ESTIMATION AND FIELD IN HOMOGENEITY MEASUREMENT.....	97
3.2 STUDY 2: COUPLED SPIN SYSTEM ESTIMATION USING A SIMULATED METABOLITE 2D COSY SIGNAL.....	100
3.3 2D MRS SEQUENCE ANALYSIS USING CRAMÉR RAO LOWER BOUNDS.....	102
4 DISCUSSION	103
5 ACKNOWLEDGEMENT	105
II. ÉLÉMENTS COMPLEMENTAIRES.....	109
1. FIELDMAP.....	109
2. MODELE DE RELAXATION DU SIGNAL :	110
3. ACQUISITIONS IN VIVO	111
CONCLUSION	113
 CHAPITRE 4 : APPLICATION DE LA SPECTROSCOPIE L-COSY POUR L'ETUDE DES LIPIDES HEPATIQUES ET ABDOMINAUX CHEZ UN MODELE DE SOURIS OBESE.....	114
INTRODUCTION.....	115
I. TRIGLYCERIDE EN SRM 1D	116
1. STRUCTURE DES ACIDES GRAS	116
2. SPECTRE DES ACIDES GRAS	118
3. QUANTIFICATION DES TRIGLYCERIDES.....	119
II. SPECTROSCOPIE D'UN MODELE MURIN	122
1. MODELE MURIN	122

2.	PROTOCOLE EXPERIMENTAL.....	122
3.	PARAMETRES D'ACQUISITION	123
III.	ACQUISITIONS SUR LE FOIE DE SOURIS OB/OB.....	125
1.	SPECTROSCOPIE 1D.....	125
2.	SPECTROSCOPIE 2D.....	125
3.	RESULTATS.....	126
4.	CALCUL DES INDICES POUR LE FOIE.....	127
IV.	ACQUISITIONS SUR LES LIPIDES SOUS-CUTANES	131
1.	SPECTROSCOPIE 1D.....	131
2.	SPECTROSCOPIE 2D.....	131
3.	RESULTATS	133
V.	CONCLUSION SUR LA FAISABILITE DE LA SRM2D QUANTITATIVE <i>IN VIVO</i> POUR L'ETUDE DU CONTENU LIPIDIQUE DU FOIE ET DES TISSUS SOUS CUTANES	134
VI.	QUANTIFICATION DES TRIGLYCERIDES DU FOIE VIA UNE METHODE DE QUANTIFICATION 2D TEMPORELLE DEDIEE	135
1.	BASE DE TRIGLYCERIDES	136
2.	RESULTATS.....	138
3.	DISCUSSION/CONCLUSION.....	142
VII.	QUANTIFICATION DES TRIGLYCERIDES DU TISSUS SOUS-CUTANE VIA UNE METHODE DE QUANTIFICATION 2D TEMPORELLE DEDIEE	144
1.	RESULTATS :	145
2.	DISCUSSION/CONCLUSION.....	147
VIII.	DIFFERENTES TENTATIVES	148
1.	UNE DIMINUTION DU CHAMP ?	148
2.	UNE DIMINUTION DU TEMPS D'ACQUISITION ?	149
a)	Choix de l'échantillonnage	150
b)	Essai sur une acquisition L-COSY des tissus adipeux.....	151
c)	Discussion/Conclusion.....	152
CONCLUSION	153
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....		154
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....		158
ANNEXES.....		167

Liste des figures

FIGURE 1 : A) PREMIER SIGNAUX RMN DETECTE. B) ECHO DE HAHN C) PHENOMENE DE DEPLACEMENT CHIMIQUE MIS EN EVIDENCE PAR W. PROCTOR.	15
FIGURE 2 : PREMIERE IMAGE RMN ISSUE DE L'ARTICLE PUBLIE PAR PAUL LAUTERBUR EN 1973 (NATURE, 242,190, 1973).	15
FIGURE 3 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE L'ALIGNEMENT DU MOMENT DE SPIN D'UN NOYAU EN FONCTION DE LA PRESENCE D'UN CHAMP MAGNETIQUE STATIQUE EXTERNE B0. LE SPIN SERA ALORS ANIME D'UN MOUVEMENT DE PRECESSION AUTOUR D'UN AXE COLINEAIRE AVEC LE CHAMP STATIQUE.	18
FIGURE 4 : FREQUENCE DE RESONANCE ET CHAMPS STATIQUE ASSOCIE POUR DEUX TYPES DE SPINS $\frac{1}{2}$ (TIRE DE L'ALMANACH BRUKER 2010).	19
FIGURE 5 : LEVEE DES DEGENERESCENCES D'ENERGIE POUR UN SPIN EN PRESENCE D'UN CHAMP MAGNETIQUE STATIQUE.	21
FIGURE 6 : EN BLEU : REPRESENTATION DU FID COMPLEXE ACQUIS CORRESPONDANT A LA PROJECTION DE LA MAGNETISATION DANS LE PLAX XY. EN ROUGE : PROJECTION EN X. EN NOIR : PROJECTION EN Y.	23
FIGURE 7 : A) FID OBTENU APRES UNE IMPULSION DE 90°. LE TEMPS D'ACTIVATION DE NOTRE INSTRUMENT DE MESURE (REPRESENTE PAR UN ADC, ANALOG-TO-DIGITAL CONVERTER) EST TROP LONG POUR ACQUERIR LE FID B) ECHO DE SPIN OBTENU APRES L'APPLICATION D'UN MOTIF D'IMPULSION 90°-180°. LE PHENOMENE D'ECHO DE HAHN PERMET DE RELOCALISER DANS LE TEMPS LE SIGNAL RMN A UN TEMPS D'ECHO DIT TE DE MANIERE A CE QU'IL PUISSE ETRE FACILEMENT ACQUIS AVEC NOTRE INSTRUMENT DE MESURE. C) CINEMATIQUE DE L'EVOLUTION DE L'AIMANTATION DES SPINS SOUMIS AU SCHEMA D'IMPULSION B).	24
FIGURE 8 : UNE MODIFICATION DES NIVEAUX D'ENERGIE PAR EFFET ZEEMAN OPERERA UN DECALAGE DE LA FREQUENCE DE RESONANCE.	26
FIGURE 9 : EFFET DU COUPLAGE SCALAIRE DANS UN SPECTRE. EXEMPLE D'UNE MOLECULE DE LACTATE. A GAUCHE : INTERACTION DU A L'EFFET DE DELPLACEMENT CHIMIQUE : . ON A ALORS DEUX SINGULETS DONT L'AIRES CORRESPOND DIRECTEMENT AU NOMBRE DE PROTONS RESONANTS. A DROITE : EFFET DU COUPLAGE SCALAIRE SUR LES RESONANCES. UN ECLATEMENT DES RESONANCES APPARAÎT. POUR CONNAÎTRE LE NOMBRE DE PROTONS RESONANTS, IL FAUT PRENDRE EN COMPTE L'AIRES TOTALE DU MULTIPLET CORRESPONDANT AU GROUPEMENT.	27
FIGURE 10 : A) APPLICATION DE GRADIENT DE CHAMP POUR LE CODAGE EN FREQUENCE ET EN PHASE : SEUL LES PROTONS SELECTIONNES PAR LE GRADIENT VONT ETRE EXCITES (EN GRIS CLAIR). B) UN GRADIENT VA ENCODER EN PHASE L'ESPACE ET L'APPLICATION D'UN GRADIENT DIT D'ENCODAGE EN FREQUENCE VA PERMETTRE DE DISCRIMINER EN FREQUENCE CET ESPACE ENCODE DONNANT UNE MATRICE D'ACQUISITION.	29
FIGURE 11 : LOCALISATION D'UN VOLUME DANS L'ESPACE A L'AIDE DE TROIS GRADIENTS MAGNETIQUE DANS TROIS DIRECTIONS DIFFERENTES PERMETTANT DE RENDRE SELECTIF EN FREQUENCE LE VOLUME A SELECTIONNER. EN UTILISANT DES IMPULSIONS RADIOFREQUENCES POUR SELECTIONNER UNE BANDE DE FREQUENCE ON SELECTIONNE UNE TRANCHE DE L'ESPACE. L'INTERSECTION DES TROIS PLANS DE FREQUENCES SELECTIONNES PERMET DE LOCALISER UN VOLUME DANS L'ESPACE COMME PRESENTE. L'UTILISATION DU SCHEMA D'IMPULSIONS 90-180-180 EST UNE SEQUENCE DE TYPE ECHO DE HAHN () OU PLUS COMMUNEMENT APPELE ECHO DE SPIN. CE SCHEMA D'IMPULSION PERMET DE FORMER UN ECHO DE HAHN/DE SPIN QUI CORRESPOND A LA REFOCALISATION DE LA MAGNETISATION DES SPINS LE LONG DU PLAN TRANSVERSE DANS LE REFERENTIEL TOURNANT DU SPIN. QUAND LA MAJORITE DE LA MAGNETISATION DES SPINS AURA ATTEINT LE PLAN TRANSVERSE, L'ECHO AINSI FORME AURA UNE AMPLITUDE MAXIMALE. A CETTE AMPLITUDE MAXIMALE CORRESPONDRA UN TEMPS DIT TEMPS D'ECHO (TE) POUVANT SE CALCULER EN FONCTION DES DUREES IMPLIQUEES DANS LA SEQUENCE.	31
FIGURE 12 : SPECTRE RMN SIMULE A 7T DU GLUTAMATE, GLUTAMINE, GABA ILLUSTRANT LE PROBLEME DE L'ENCHEVETREMENT SPECTRAL EN SRM1D.	33
FIGURE 13 : IDEE DE JEENER POUR UNE SEQUENCE DEUX IMPULSIONS. ON DISTINGUE QUATRE PERIODES DANS LA SEQUENCE CORRESPONDANT A UN EFFET SUR LES SPINS. DANS LA PERIODE DE PREPARATION LES SPINS SONT EXCITES PAR UNE OU PLUSIEURS IMPULSIONS RF. L'AIMANTATION RESULTANTE VA ALORS EVOLUER DURANT UNE DUREE T1, OBTENUE PAR L'INCREMENT TEMPOREL. UNE PERIODE DE MIXAGE CONSTITUE D'UNE OU PLUSIEURS IMPULSIONS VA ALORS PERMETTRE UN TRANSFERT D'AIMANTATION ENTRE DIFFERENTS SPINS. APRES CETTE PERIODE LE FID EST ENREGISTRE PENDANT LA PERIODE DE DETECTION (T2).	34
FIGURE 14 : STOCKAGE DU FID ET OBTENTION DU SPECTRE 2D APRES TRANSFORMEE DE FOURIER DISCRETE 2D (FFT 2D). EXEMPLE EN LCOSY SUR UN ECHANTILLON DE LACTATE.	36
FIGURE 15 : SPECTRE HAUTE RESOLUTION 2D D'UNE MOLECULE DE MACHIN : A) SPECTRE J-RESOLUE. B) SPECTRE DE CORRELATION (COSY).	42
FIGURE 16 : A) PROCEDURE D'OPTIMISATION UTILISE PAR PROFIT. B) EXEMPLE DE SPECTRE ACQUIS (HAUT), QUANTIFIE (MILIEU) ET RESIDUS (BAS). C) RESULTATS DE LA QUANTIFICATION OBTENUS SUR LE CERVEAU SAIN POUR UNE COHORTE DE 27 SUJETS SAINS A 3T.	47
FIGURE 17 : EXEMPLE DU FORMALISME DES OPERATEURS PRODUITS POUR UN SYSTEME DE DEUX SPINS EVOLUANT SELON UNE SEQUENCE D'IMPULSION DE TYPE COSY. PENDANT LA PERIODE DE PREPARATION, ON BASCULE LES SPINS DANS LE PLAN TRANSVERSE. LE GROUPEMENT VA ENSUITE EVOLUER DURANT UN TEMPS T1 SELON DEUX HAMILTONIEN D'ACTION : PRECESSION LIBRE ET EFFET ZEEMAN (DEPLACEMENT CHIMIQUE). LA PERIODE DE MELANGE VA PERMETTRE AUX SPINS D'ECHANGER LEUR COHERENCE PAR L'ENTREMISE DU PHENOMENE DE COUPLAGE SCALAIRE. LORS DE LA PERIODE DE DETECTION, ON DETECTERA LES TERMES EN IX,IY,IZSX, IZSY, IXSZ, IYSZ (COHERENCE EN PHASE ET ANTIPHASE). L'ECHO OBTENU SERA MODULE PAR LES COHERENCES CREEES ET SERA LUI-MEME MODULE PAR UNE EVOLUTION EN HAMILTONIEN ZEEMAN ET DE COUPLAGE SCALAIRE.	55
FIGURE 18 : CHRONOGRAMME DE LA SEQUENCE L-COSY DEVELOPEE. L'ECHO SE FORME AU TEMPS TE1+TE2 = TE DECRIE EN HAUT DE LA FIGURE ET SON ACQUISITION S'EFFECTUE DURANT UN TEMPS T2 (EN ROUGE) DONNANT AU SPECTRE 2D SA DIMENSION DIRECTE. LE TEMPS T1 ENTRE L'IMPULSION DE REFOCALISATION (π) ET D'EXCITATION ($\pi/2$) EST INCREMENTE N1 FOIS ET DONNERA SA DIMENSION INDIRECTE AU SPECTRE 2D. LES TECHNIQUES DE SUPPRESSION D'EAU ET DE SATURATION DU VOLUME EXTERIEUR SONT DES MODULES PRE-SEQUENCE POUVANT ETRE DESACTIVES. LE CHEMIN DE COHERENCE DE LA SEQUENCE EST REPRESENTE EN BAS DE LA FIGURE ET PEUT ETRE SELECTIONNE PAR LES GRADIENTS DE DISPERSION AVANT LA DERNIERE IMPULSION REPRESENTE EN BLEU POUR AVOIR UN ANTI ECHO (CHEMIN DE COHERENCE : $P=+1$) ET EN NOIR POUR UN ECHO ($P=-1$).	62
FIGURE 19 : CHRONOGRAMME DE LA L-COSY MESURE VIA UN OSCILLOSCOPE. SEULS LES GRADIENTS SONT REPRESENTES.	64
FIGURE 20 : PROFIL DE SELECTION REEL D'UNE IMPULSION DE REFOCALISATION SELECTIVE EN FREQUENCE : PROFIL REEL (EN BLEU) ET PROFIL THEORIQUE (EN BLANC).	65
FIGURE 21 : ILLUSTRATION DE L'EFFET DE COMPARTIMENTATION D'UN VOXEL PAR INTERFERENCE SPATIALE : A) LES BANDES PASSANTES (BP.) DES IMPULSIONS NE VONT PAS COUVRIR TOTALEMENT LA REGION FREQUENTIELLE D'INTERET. B) LE VOXEL ACQUIS SERA DECOMPOSE EN SIGNAUX CORRESPONDANT A DES ZONES OU LE SIGNAL PROVIENDRA DE SPINS QUI AURONT EXPERIMENTES LES TROIS IMPULSIONS (1), DEUX IMPULSIONS (2-3), OU AUCUNE (4).	66
FIGURE 22 : PROFIL D'EXCITATION DES IMPULSIONS SELECTIVES UTILISEES POUR LES SEQUENCES DE CORRELATION (A GAUCHE) ET LES SEQUENCES DE TYPE PRESS. L'INTEGRATION NUMERIQUE DES VOLUMES MONTRE UN RAPPORT DE 0,82 ENTRE LA SELECTION DE LA JPRESS ET LA LCOSY.	67
FIGURE 23 : EVOLUTION DE LA COHERENCE DE DIFFERENTE POPULATION DE SYSTEME DE SPINS EN FONCTION DE T1	67
FIGURE 24 : SPECTRE 1D PRESS D'UN FANTOME DE 9 METABOLITES DANS UN GEL D'AGAROSE A 2%.	68
FIGURE 25 : SPECTRE 2D LCOSY SUR LE MEME FANTOME DE 9 METABOLITES DANS UN GEL D'AGAROSE QUE LA FIGURE 7. REPRESENTATION EN MAGNITUDE AVEC PROJECTION LE LONG DE LA DIMENSION DIRECTE DU SPECTRE EN HAUT. LE NIVEAU DE CONTOUR CHOISIS PERMET DE METTRE EN EVIDENCE 6 MOTIF DE TACHES DE CORRELATION.	69
FIGURE 26 : CHRONOGRAMME DE LA SEQUENCE L-CTCOSY DEVELOPEE. L'INCREMENT DE TEMPS A ETE DEVELOPEE POUR QUE LE TEMPS ENTRE LA PREMIERE ET LA DERNIERE IMPULSION AIT UNE DUREE EGALE AU TEMPS CONSTANT CHOISIS. L'IMPULSION DE REFOCALISAT	70

FIGURE 27 : SPECTRE L-CTCOSY DE CHOLINE EN SOLUTION A 4.7T POUR DIFFERENTE CONSTANTE DE TEMPS TC. LES GROUPEMENTS CH ₂ DE LA CHOLINE ONT UNE CONSTANTE DE COUPLAGE SCALAIRE J=5HZ. LES TACHES DE CORRELATION ASSOCIEES AURONT UNE VALEUR OPTIMALE AUTOUR DE 100MS, CE QUI EST LE CAS POUR NOS ACQUISITIONS.....	71
FIGURE 28 : SPECTRE JPRESS DU MELANGE DE METABOLITE DANS UN GEL D'AGAROSE. LES TACHES EN DEHORS DE LA LIGNE A 0HZ INDIQUENT LA PRESENCE D'UN COUPLAGE SCALAIRE POUR LE METABOLITE.....	72
FIGURE 29 : DIFFERENTS TRAITEMENTS DISPONIBLE ET LEUR EFFET SUR LE SPECTRE.....	73
FIGURE 30 : DIFFERENT TRAITEMENT SONT POSSIBLE SUR LE SPECTRE 2D. LEUR EFFET PERMET DE METTRE EN EVIDENCE DES TACHES DE CORRELATION QUI PEUVENT ETRE NOYE DANS LE BRUIT. ICI, EN SITUATION <i>IN VIVO</i> AVEC UN SPECTRE 2D DE 4096x128 POINTS DU CERVEAU DE RAT ACQUIS AVEC 4 ACCUMULATIONS LES DIFFERENTS TRAITEMENTS PERMETTENT DE METTRE EN EVIDENCE LES TACHES DE CORRELATION DU LACTATE (1.3x4.1 PPM).....	74
FIGURE 31 : FID ACQUIS SUR UN FANTOME DE METABOLITES SANS TRAITEMENT. A) FID 2D REPRESENT EN MAGNITUDE : POUR LA LCOSY, ON NOTE L'APPARITION D'UNE DIAGONALE CARACTERISTIQUE LE LONG DE LAQUELLE EVOLUE L'ECHO DE TRANSFERT DE COHERENCE, ON OBSERVE LE MEME COMPORTEMENT POUR LA L-CTCOSY. B) INTERFEROGRAMME MONTRANT LES DIFFERENTES EVOLUTIONS ET MODULATION LE LONG DE LA DIMENSION INDIRECTE T ₁ REPRESENT EN PARTIE REELLE. LA LARGEUR DES DIFFERENTES RAIES MONTRENT UNE PONDERATION DIFFERENTES ET PLUS IMPORTANTE LE LONG DE LA DIMENSION INDIRECTE POUR LA LCOSY. LES DIFFERENTES MODULATIONS EN T ₁ MONTRENT UNE EVOLUTION DIFFERENTE PAR RAPPORT A LA JPRESS.....	75
FIGURE 32 : ILLUSTRATION DE LA PROCEDURE DE MINIMISATION. L'UN DES PROBLEMES D'UN NOMBRE TROP IMPORTANT DE PARAMETRES A ESTIMER EST LA PRESENCE DE MINIMA LOCAUX. L'UTILISATION DE CONTRAINTES SUR LES PARAMETRES TELLE L'UTILISATION DE VALEURS MINIMALES ET MAXIMALES PERMET DE REDUIRE L'ESPACE DES PARAMETRES A PARCOURIR POUR ABOUTIR A UNE SOLUTION. L'ALGORITHME DE MINIMISATION CALCULE UNE TRAJECTOIRE QUI MENERA VERS CET ENSEMBLE DE PARAMETRES MINIMISANT LA FONCTION DE COUT.....	78
FIGURE 33 : RESULTAT D'ESTIMATION DU PARAMETRE AMPLITUDE D'UN SIGNAL LCOSY BRUITE. L'ESTIMATION A ETE REALISEE 200 FOIS. LES AMPLITUDES DONNEES SONT LES AMPLITUDES MOYENNES DE CES ESTIMATIONS. LA MOYENNE DES BORNES DE CRAMER RAO DE CHAQUE ESTIMATION EST DONNEE EN ERREUR RELATIVE.....	80
FIGURE 34 : EVOLUTION DES BORNES CRBS POUR L'ESTIMATION DE L'AMPLITUDE EN FONCTION DE L'INTRODUCTION D'UN NIVEAU DE BRUIT PROPORTIONNEL AU SIGNAL DU SINGLET DU NAA POUR UNE SEQUENCE LCOSY (100 = 100% SIGNAL, 80 = 80 % SIGNAL + 20% BRUIT) . UNE BASE DE METABOLITE UTILISANT DES PARAMETRES D'AMPLITUDE AUTOUR DE LEUR VALEUR <i>IN VIVO</i> , T ₂ VARIANT AUTOUR 200ms±10% ET DE T _{2INH} = 30 MS ONT ETE UTILISES.....	81
FIGURE 35 : BORNES DE CRAMER RAO SUR L'AMPLITUDE CALCULES POUR UNE BASE DE METABOLITE EN CONDITION <i>IN VIVO</i> POUR DIFFERENTS PAS D'ECHANTILLONNAGE POUR LA LCOSY.....	82
FIGURE 36 : PROCESSUS DE CREATION DE LA BASE DE METABOLITE SIMULEE A L'AIDE DE SPINACH.....	83
FIGURE 37 : REPRESENTATION DE SPECTRE LCOSY SIMULE SOUS SPINACH POUR DES METABOLITES FORTEMENT COUPLES POUR UN CHAMP B ₀ = 7T EN UTILISANT UN ECHANTILLONNAGE DANS LES DEUX DIMENSIONS DE 4000HZ, UN NOMBRE DE POINT DE 1024 PTS EN T ₂ ET 128 EN T ₁ . LE SIGNAL SIMULE A ETE APODISE EN UTILISANT UN FACTEUR D'AMORTISSEMENT DE 15HZ. LA PARTIE REELLE DU SPECTRE EST REPRESENTEE SOUS FORME DE CONTOUR ENTRE 0 ET 5 PPM POUR LES DIMENSIONS F ₁ ET F ₂	85
FIGURE 38: 2D MRS SEQUENCES DEVELOPED BASED ON THREE SELECTIVE PULSE SCHEME AND USED FOR THIS STUDY. (UP) JPRESS 2D MRS SEQUENCE: THE STANDARD PRESS SCHEME IS CONSERVED WHILE THE ECHO TIME (T _e) IS INCREMENTED AT EACH T ₁ RESULTING IN A J-MODULATION EXPRESSION ALONG THE INDIRECT DIMENSION. (DOWN) LOCALIZED CORRELATION SPECTROSCOPY (LCOSY) AND LOCALIZED CONSTANT TIME CORRELATION SPECTROSCOPY (LCTCOSY): THE SCHEME IS MODIFIED BY REPLACING LAST PULSE BY A 90° TOGETHER WITH A GRADIENT WHICH GIVES ACCESS TO N-TYPE COHERENCE TRANSFER PATHWAY. THE INCREMENTS (IN GREY) FOR LCTOSY ARE SITUATED ON BOTH SIDES OF THE 180° PULSE WHILE LCOSY HAS A SIMPLE INCREMENT (IN BLACK) AFTER THE SECOND PULSE. BY PLAYING ON THE TC CONSTANT IN THE LCTCOSY SCHEME, IT IS POSSIBLE TO TARGET CERTAIN SCALAR COUPLING EXPRESSION.....	93
FIGURE 39: PRINCIPLE OF THE FIT STRATEGY FOR L-COSY SPECTRUM QUANTIFICATION, AIMING AT ESTIMATING THE PARAMETERS OF MODEL FUNCTION GIVEN IN EQUATION (1) AND (2). AT EACH STEP, A NON LINEAR LEAST SQUARE ESTIMATION OF SOME PARAMETERS IS COMPUTED AND THE INITIAL VALUES OF THE PARAMETERS TO BE ESTIMATED ARE SET TO THE VALUES FOUND IN THE PREVIOUS STEP.....	95
FIGURE 40: LCTCOSY SPECTRUM (LEFT COLUMN) OF N-ACETYL ASPARTATE SINGLET (2PPM) AT 4.7T ASSOCIATED TO ITS TIME DOMAIN SIGNAL (RIGHT COLUMN). A): ACQUIRED SPECTRUM AFTER HSLVD FILTERING. B): RESULTING ESTIMATED SPECTRUM OBTAINED BY 2D MRS FITTING PROCEDURE WITH ONLY ONE SINGLET IN THE BASIS SET C): RESIDUAL SIGNAL OBTAINED BY SUBTRACTION OF ORIGINAL COMPLEX SIGNAL AND FITTED ONE. SPECTRA ARE REPRESENTED AS CONTOUR PLOT OF THE REAL PART. PHASE AND SHAPE OF THE ORIGINAL SPECTRA IS PRESERVED IN THE FITTING.....	99
FIGURE 41: CORRELATION MATRIX COMPUTED FOR LCOSY USING THREE SINGLET (C ₁ ,C ₂ ,C ₃) WITH SAME AMPLITUDES AND RESONATING AT 4PPM, 3.95PPM AND 3.8PPM TO INVESTIGATE EFFECT OF RELATIVE VALUE OF T ₂ AND T _{2INH} (OR EQUIVALENTLY R ₂ AND R _{2INH}). CORRELATION COEFFICIENTS BETWEEN AMPLITUDE PARAMETER (AMP) INCREASE WHEN T _{2INH} BECOMES SHORT (TOP LINE). WHEN T _{2INH} IS LONGER (BOTTOM LINE) AS IN METABOLITE SOLUTIONS AND METABOLITE ADMIXTURE, THE CORRELATION COEFFICIENTS BETWEEN PARAMETER AMPLITUDE ARE WEAKER AND A STRONG NEGATIVE CORRELATION COEFFICIENT IS FOUND BETWEEN T ₂ AND T _{2INH} PARAMETERS CHANGING THE CHALLENGE TO TACKLE DURING THE FITTING PROCEDURE. IN ANY CASE THE CORRELATION COEFFICIENT BETWEEN THE AMPLITUDE PARAMETER(AMP) AND R ₂ PARAMETER ARE STRONG.....	100
FIGURE 42: QUANTIFICATION RESULTS FOR THE LCOSY LACTATE SPECTRUM, ACQUIRED AT 4.7T, STUDIED THROUGH THE CHEMICAL SHIFT ARTIFACT USING DIFFERENT RF SELECTIVE PULSE BANDWIDTH. SPECTRA (ACQUISITION ACQ, FIT AND RESIDUAL SPECTRUM RES) ARE REPRESENTED AS CONTOUR PLOT OF THE REAL PART WITH THE SAME SCALE. (UP) CROSS PEAK FITTING ARE MAINLY AFFECTED BY THE CHEMICAL SHIFT ARTIFACT (RF PULSE BANDWIDTH OF 1500 HZ). (DOWN) IN THE CASE WHERE THE CHEMICAL SHIFT ARTIFACT IS ALMOST AWAY, THE WHOLE SPECTRUM IS FITTED AND DIAGONAL AND CROSS PEAKS SHOW THE SAME SHAPE AND PHASE AS IN THE ACQUIRED DATA.....	101
FIGURE 43: QUANTIFICATION RESULTS FOR THE LCOSY SPECTRUM OF A METABOLITE ADMIXTURE IN AGAROSE GEL. SPECTRA (ACQUISITION ACQ, FIT AND RESIDUAL SPECTRUM RES) ARE REPRESENTED AS CONTOUR PLOT OF THE REAL PART, ADDITIONALLY ON TOP OF THE 2D DATASET IS DISPLAYED THE MAGNITUDE SPECTRUM PROJECTION IN THE F ₂ DIMENSION. THE CONTOUR PLOTS ARE: (LEFT) ACQUIRED LCOSY SPECTRUM (ACQ) OF AN ADMIXTURE AT 4.7T WITH METABOLITE ASSIGNMENT, (MIDDLE) FITTED SPECTRUM USING THE DESCRIBED ALGORITHM AND STRATEGY (RIGHT) RESIDUAL SPECTRUM. MAIN METABOLITES ARE FITTED IN THE SPECTRUM AND CONCENTRATION FOUND WAS IN ACCORDANCE WITH THE ADMIXTURE COMPOSITION. THE T _{2INH} FOUND WAS IN AGREEMENT WITH THE FIELDMAP DERIVED MEASUREMENT.....	101
FIGURE 44 : CRAMER RAO LOWER BOUNDS ON CONCENTRATION PARAMETER CALCULATED FOR THE STUDIED 2D MRS SEQUENCES AT 7T AND FOR <i>IN VIVO</i> CONDITION (MEAN T ₂ WAS 200 MS, T _{2INH} 10MS, CONCENTRATION FROM [1]) AND FOR THE FOLLOWING PARAMETERS: FOR CORRELATION SPECTROSCOPY MATRIX 256x2048, 4KHZx4KHZ, MINTE=16MS, NA=1, FOR JPRESS MATRIX 32x2048, NA=8, MINTE=16MS FE2=4KHZ AND FOUR DIFFERENT SAMPLING SCHEME IN THE INDIRECT DIMENSION. THE NOISE LEVEL WAS SET SO THAT THE SNR OF TIME DOMAIN NAA SINGLET IN JPRESS WAS EQUAL TO 11. LCTCOSY SIMULATED WITH TC=70MS, (IN LIGHT GREY) IS PENALIZED BY T ₂ WEIGHTING IN EXP(-TC/T ₂) FOR COUPLED SYSTEM (SUCH AS GLN, GABA). LCOSY (IN BLACK) SHOWS LOWER BOUNDS FOR GLN, GABA, TAU COMPARED TO JPRESS (DARK GREY) FOR THE CHOSEN SAMPLING SCHEMES.....	102
FIGURE 45: VALEURS ESTIMEES DE T _{2INH} COMPAREES A LA VALEUR OBTENUE PAR MESURE SUR UNE CARTE D'INHOMOGENEITES FIELDMAP POUR DIFFERENTES TAILLE DE Voxel SELON DIFFERENTES STRATEGIE D'ESTIMATION.....	110
FIGURE 46: EVOLUTION DE LA PROPAGATION DES DEUX TYPES DL'ECHO EN LCOSY DANS LE PLAN TEMPOREL 2D. ON NOTE DIFFERENT TYPE DE RELAXATION.....	111

FIGURE 47 : ACQUISITION LCOSY <i>IN VIVO</i> A 4.7 ET 7T SUR UN CERVEAU DE RAT. LES PRINCIPAUX SINGULETS SONT IDENTIFIABLES. LES OPERATIONS DE SYMETRISATION PERMETTENT DE METTRE EN EVIDENCE LES TACHES DE CORRELATION DU LACTATE.....	112
FIGURE 48 : REPRESENTATION D'UN TRIGLYCERIDE. EXEMPLE POUR L'ACIDE OLEIQUE ET SA FORME SATURÉE L'ACIDE STEARIQUE. LA NOTATION ASSOCIEE EN BAS DU NOM DE CHAQUE MOLECULE CORRESPOND A LA NOTATION SYSTEMATIQUE DES LIPIDES INDIQUANT LE NOMBRE DE CARBONE DE LA CHAÎNE (18 DANS NOTRE EXEMPLE), LE NOMBRE D'INSATURATION (0 POUR L'ACIDE STEARIQUE ET 1 POUR L'ACIDE OLEIQUE) ET ENFIN LA POSITION EN NUMERO DE CARBONE DE CETTE DERNIERE PAR RAPPORT AU GROUPEMENT CARBOXYLIQUE.	117
FIGURE 49 : A) SPECTRE PRESS <i>IN VIVO</i> (TE = 16 MS, TR=3000MS) DU TISSUS ADIPEUX D'UNE SOURIS OBESE A 7T B) EXTRAIT DE TISSUS BRUN ACQUIS EN HAUTE RESOLUTION (500MHZ) ET RESONANCES ASSOCIEES AUX DIFFERENTS GROUPEMENTS D'UNE CHAÎNE DE TRIGLYCERIDES (EXTRAIT DE ZANCANARO [79])	119
FIGURE 50 : SYNTHESE DU PROTOCOLE EXPERIMENTAL UTILISE POUR L'ETUDE. LES TEMPS S1 ET S2 CORRESPONDENT AUX TEMPS DE VIE DES SOUSIRS RESPECTIF DE 5 ET 7 SEMAINES APRES LA NAISSANCE. LES MASSES MOYENNES (M) SONT PRESENTEES POUR LE GROUPE ET AUGEMENTENT SUR LES DEUX SEMAINES. LA LARGEUR A MI HAUTEUR DU PIC DE L'EAU EST DONNEE (FMWH) ET MESURE SUR LE SPECTRE 1D PRESS.	122
FIGURE 51 : IMAGE RARE ABDOMINALE D'UNE MEME SOURIS UTILISEE POUR LA LOCALISATION DU VOXEL DE SPECTROSCOPIE.....	124
FIGURE 52 : SPECTRES 1D PRESS REPRESENTATIFS DU GROUPE DE SOURIS POUR DEUX CONDITIONS DE SHIM : A) SITUATION DE SHIM TELLE QUE LA LARGEUR A MI-HAUTEUR DU PIC DE L'EAU A 4.7PPM MESURE EST A 44HZ ET CELUI DU PIC A 1.3PPM A 44HZ ET B) A 70HZ POUR L'EAU ET 70HZ POUR LE PIC A 1.3PPM. EN FONCTION DE LA QUALITE DU SHIM, CERTAINES RESONANCES N'APPARAISSENT PAS CLAIREMENT (REPRESENTES EN ROUGE). LES DIFFERENTES RESONANCES ANNOTEES SONT DONNEES EN TABLEAU 8 DU PARAGRAPHE 4-C.....	125
FIGURE 53 : SPECTRE LCOSY DU FOIE. L'ASSIGNEMENT DES DIFFERENTES RESONANCES EST DONNE DANS LE TABLEAU 8.	126
FIGURE 54 : INDICES CALCULES SUR LES SPECTRES 1D ACQUIS POUR DEUX POINTS TEMPORELS : CINQUIEME SEMAINE APRES LA NAISSANCE (EN BLEU) ET SEPTIEME SEMAINE (EN ROUGE).	127
FIGURE 55 : INDICE DE SATURATION ET FRACTION D'INSATURATION CALCULE A PARTIR DE L'INTEGRATION DES RESONANCES D'AUTOCORRELATION DANS LE SPECTRE 2D.	128
FIGURE 56 : INDICES TROUVES PRENANT EN COMPTE LES CORRELATIONS CROISEES PRESENT DANS LE SPECTRE DES TRIGLYCERIDES DU FOIE. A) EVOLUTION DE LA FRACTION D'INSATURATION EN FONCTION DE LA FRACTION DE GROUPEMENT OLEFINIQUE. B) EVOLUTION DU RAPPORT DE LA CORRELATION ENTRE LES GROUPEMENTS METHYLENE ET METHYL ET L'AUTOCORRELATION DU METHYLENE.	129
FIGURE 57 : SPECTRE 1D PRESS (HAUT) ET SPECTRE 2D LCOSY (EN BAS) ACQUIS <i>IN VIVO</i> EN MEME CONDITION DE SHIM DEGRADE (LARGEUR A MI-HAUTEUR DU PIC DE L'EAU = 85HZ).	130
FIGURE 58 : SPECTRE 1D PRESS SUR LE TISSUS SOUS CUTANEE. LE SPECTRE PRESENTE EN COMPARAISON AU SPECTRE DES TRIGLYCERIDES DU FOIE UNE COMPOSANTE EN MOINS : CELLE DE L'EAU ET DES RESONANCES SUPPLEMENTAIRE EN 2.8/4.2/4.4 PPM. LA RESONANCE A 2.8PPM EST UN MARQUEUR D'INSATURATION. LES RESONANCES A 4.2/4.4 PROVIENNENT DES GROUPEMENTS GLYCEROL, CE SONT DES MARQUEURS DE BOUT DE CHAÎNE.	131
FIGURE 59 : SPECTRE LCOSY DES TISSUS SOUS-CUTANES. L'ASSIGNEMENT DES DIFFERENTES RESONANCES EST DONNE DANS LE TABLEAU 9.	132
FIGURE 60 : PRINCIPALE DIFFERENCE DANS L'APPROCHE DE QUANTIFICATION EN UTILISANT UNE CONNAISSANCE A <i>PRIORI</i> ENTRE LES METABOLITES CERVEAUX ET LES GROUPEMENTS DE LA COMPOSITION TRIGLYCERIDES. A) UNE RESONANCE APPARTIENT A UN GROUPEMENT D'UNE UNIQUE MOLECULE B) PLUSIEURS GROUPEMENT DE DIFFERENTES MOLECULES DE TRIGLYCERIDES PARTICIPENT A UNE MEME RESONANCE.	136
FIGURE 61 : BASE DE TRIGLYCERIDES SIMULEE EN LCOSY. LES SIMULATIONS ONT ETE APODISEES ET NORMALISEES A LA MEME INTENSITE. LES RESONANCES D'UN MEME GROUPEMENT ONT LA MEME COULEUR DE CONTOURS.....	137
FIGURE 62 : (HAUT) RESULTAT DE QUANTIFICATION SUR UN SPECTRE LCOSY DU FOIE A 7T. (BAS) DIFFERENTES EXTRACTIONS SONT PRESENTE POUR DIFFERENT T1 (EN ROUGE : FIT, EN NOIR : ACQUISITION : EN BLEU : RESIDUS, EN POINTILLE : $\pm 20\%$ DU SIGNAL MAX). LE RESIDU OBTENU EST INFÉRIEUR A 15%.	139
FIGURE 63 : INDICES CALCULES A PARTIR DES RESULTATS DE QUANTIFICATION. LA FRACTION D'INSATURATION (FUL) A ETE CALCULEE A PARTIR DES TROIS EXPRESSIONS INDIQUEES DANS LE TABLEAU 7	140
FIGURE 64 : T2INH MOYEN DES GROUPEMENTS POUR CHAQUE SOURIS.	140
FIGURE 65 : EVOLUTION DU T2 MOYEN SUR CHAQUE SOURIS DES DIFFERENTS GROUPEMENTS ESTIMES POUR LE FOIE (ANNOTES SELON LE TABLEAU 10) SUR DEUX SEMAINES.....	141
FIGURE 66 : EVOLUTION DE L'AMPLITUDE DE CHAQUE COMPOSANTE DE LA BASE DE TRYGLICERIDES UTILISEE LORS DE LA QUANTIFICATION DU FOIE ENTRE LA SEMAINE 1 ET LA SEMAINE 2 POUR CHAQUE SOURIS.	141
FIGURE 67 : QUANTIFICATION DES TRYGLICERIDES DES TISSUS ADIPEUX.....	144
FIGURE 68 : EVOLUTION DE L'AMPLITUDE DE CHAQUE COMPOSANTE DE LA BASE DE TRYGLICERIDES UTILISEE LORS DE LA QUANTIFICATION DU TISSUS ADIPEUX ENTRE LA SEMAINE 1 ET LA SEMAINE 2 POUR CHAQUE SOURIS.....	145
FIGURE 69 : T2INH MOYEN DES GROUPEMENTS ESTIMES SUR LE TISSU ADIPEUX POUR CHAQUE SOURIS.	146
FIGURE 70 : EVOLUTION DU T2 MOYEN SUR CHAQUE SOURIS DES DIFFERENTS GROUPEMENTS ESTIMES POUR LE TISSUS ADIPEUX SUR DEUX SEMAINES.	146
FIGURE 71 : INDICES DE LA COMPOSITION EN TRIGLYCERIDES CALCULES A PARTIR DE LA QUANTIFICATION DES SPECTRES LCOSY DU TISSUS ADIPEUX. LA PRESENCE DU GROUPEMENT G, MARQUEUR DE LA POLYINSATURATION PERMET LE CALCUL DE DEUX INDICES SUPPLEMENTAIRE (POLYINSATURATION1 : $3/2 \text{ G/A}$ ET POLYINSATURATION2 : G/F)	147
FIGURE 72 : SPECTRES ACQUIS A 4.7T SUR UN MODELE DE SOURIS DE GLYCOGENOSE. LE SPECTRE LCOSY EXPOSE CLAIREMENT DES ELEMENTS SUPPLEMENTAIRES, NOTAMMENT LE GROUPEMENT ATTRIBUE A G AUX ALENTOURS DE 4 PPM.	149
FIGURE 73 : A) SPECTRE 2D LCOSY DES TRIGLYCERIDES DU TISSUS ADIPEUX <i>IN VIVO</i> . LES ZONES D'INTERETS GARDES DANS LE CHOIX DE L'ECHANTILLONAGE IRRÉGULIER SONT ENCADREES. B) ECHANTILLONAGE REGULIER SUR 256 LIGNES EN DIMENSION INDIRECTES (BLEU) ET OBTENUE AVEC L'ALGORITHME DE RECONSTRUCTION (ROUGE) POUR DIFFERENT FACTEUR DE RECONSTRUCTION (REGULIER/IRRÉGULIER).	151
FIGURE 74 : RESULTAT DE QUANTIFICATION POUR CHAQUE GROUPEMENT SUR UN SPECTRE LCOSY DES TRIGLYCERIDES DU TISSUS ADIPEUX : COMPARAISON ENTRE UNE QUANTIFICATION SUR UN SPECTRE AYANT UN ECHANTILLONAGE REGULIER (FULL, EN ROUGE) ET IRRÉGULIER (NUS, EN GRIS). LES BORNES DE CRAMER RAO ONT ETE DONNEE ESTIMEES POUR UTILISEES COMME ERREUR RELATIVE.	152

Liste des tableaux

TABEAU 1 : PRINCIPALES ETUDES <i>IN VIVO</i> UTILISANT LA SPECTROSCOPIE 2D SUR LES VINGT DERNIÈRES ANNÉES.	39
TABEAU 2 ; PRINCIPAUX ALGORITHMES DE QUANTIFICATION 1D	45
TABEAU 3 : METHODES DE QUANTIFICATION EXISTANTES POUR LA SRM 2D.	47
TABEAU 4 : PRINCIPALES ETUDES UTILISANT LES BORNES DE CRAMER RAO COMME INDICATEUR DE L'ERREUR DE QUANTIFICATION.	50
TABEAU 5 : PRINCIPAUX LOGICIELS UTILISES POUR LA SIMULATION DES SPECTRES RMN.	57
TABEAU 6 : PRINCIPAUX GROUPEMENTS CHIMIQUES PRÉSENT DANS UNE CHAÎNE DE TRIGLYCÉRIDES ET OBSERVABLES EN SRM.	118
TABEAU 7 : INDICES SUR LES INTENSITÉS DE LA RÉSONANCE DES DIFFÉRENTS GROUPEMENTS RÉSONANT DANS UN SPECTRE DES TRIGLYCÉRIDES ET REPRÉSENTATIFS DE LA COMPOSITION DES TRIGLYCÉRIDES <i>IN VIVO</i> . LES INDICES EN ROUGE SONT CEUX RETENUS DANS NOTRE ÉTUDE.	120
TABEAU 8 : PRINCIPALES RÉSONANCES OBSERVÉES DANS LE FOIE EN SPECTROSCOPIE 1D (A-G) ET EN 2D (A-G & 1-4)	126
TABEAU 9 : ASSIGNEMENT DES DIFFÉRENTES RÉSONANCES DES SPECTRES DES TRIGLYCÉRIDES DU TISSU SOUS CUTANÉES.	133
TABEAU 10 : GROUPEMENT DE TRIGLYCÉRIDE UTILISÉ DANS LA SIMULATION. LES VALEURS DE COUPLAGES SONT TIRÉES DE XXX. LES RÉSONANCES PRINCIPALES DES GROUPEMENTS OBSERVÉS EN 1D SONT DONNÉES.	138

Introduction générale

Motivations

Les techniques utilisant le phénomène de Résonance Magnétique Nucléaire permettent l'analyse de composés chimiques associés à un noyau d'intérêt. Son utilisation pour l'étude des organismes vivant est relativement récente (début des années 80) et se développe spécifiquement pour une utilisation *in vivo* à travers deux modalités : L'imagerie de résonance magnétique (IRM) qui permet l'accès à une information anatomique et fonctionnelle précieuse pour le diagnostic de pathologie. La Spectroscopie de résonance magnétique qui via l'obtention de spectre et donnant accès à une information sur la composition biochimique sur le tissu ou organe étudié.

L'avantage de ces méthodes est leur caractère non destructif et non invasif. Des suivis sont donc possibles *in vivo* sans modification de l'organisme. Leur utilisation permet d'apporter un diagnostic complet à la fois physiologique et biochimique.

Le travail présenté dans ce manuscrit s'intéresse plus précisément à la SRM qui permet de suivre l'évolution des différents composés et substance de l'organe ou tissus étudiés. Ces derniers sont principalement des métabolites qui sont des éléments entrant dans des processus de production de molécule essentielle dans la régulation chimique de l'organisme. Associé à des méthodes de quantification, la SRM permet de remonter à une concentration fiable donnant accès à une information sur les fonctions et pathologies lié au métabolisme. Principalement utilisé pour l'étude et la recherche neurologique en situation clinique (sur l'homme) ou préclinique (sur un modèle animal), la SRM permet de faire avancer la compréhension de pathologie et phénomènes complexes telles : la maladie d'Alzeihmer [1], les accidents vasculaires cérébraux [2], la schizophrénie [3] ou les troubles bipolaires [4] . De récentes études montrent son intérêt pour d'autres organes comme le foie [5] , les muscles [6], la prostate [7] , les gonades [8].

En clinique, la faiblesse des champs utilisés pour cette méthode (1.5, 3T) impactera la qualité des spectres obtenus en terme de rapport signal à bruit et de résolution spectrale, limitant l'utilisation de cette méthode en routine clinique. En préclinique, les champs accessibles sont plus importants (4.7, 7, 9.4, 11.7T) et permettent d'accéder à des spectres de grande qualité *in vivo*.

Les principaux composés d'intérêt du spectre sont donc difficilement observables et encore plus difficilement quantifiable. Une technique venant du domaine de la chimie analytique permet de contourner la limite de résolution spectrale imposée par le champ employé via la production d'une seconde dimension fréquentielle. Ces techniques dites de SRM 2D

permettent de lever les limitations de la SRM classique 1D. Cela se traduira en une quantification plus précise. On distingue principalement deux types de séquences en SRM 2D : les séquences **J-résolue**, donnant une information de couplage entre les groupements résonants et les séquences de **corrélation** donnant une information sur la structure des groupements. La quantification consiste en la mesure des différentes contributions du spectre et passe pour la spectroscopie *in vivo* dans la description paramétrique du signal acquis. Elle peut s'opérer dans le domaine d'acquisition du spectre : le domaine temporel ou son domaine de visualisation : en fréquence. Les différentes méthodes de quantification ont largement été développées en SRM 1D [9] , contrairement en SRM 2D où peu d'approches existent.

Objectifs

Ces travaux poursuivent la voie ouverte en 2012 par Tangi Roussel [10] qui a développé ses travaux de thèse sur la possibilité d'acquérir et de quantifier la SRM 2D *in vivo* sur des imageurs préclinique à 4.7T et 7T via une séquence 2D dite J-résolue (J-Resolved PRESS). Cette thèse prolonge ces travaux en développant une autre technique 2D dite de spectroscopie de corrélation localisée (Localized Correlation Spectroscopy – L-COSY), permettant une discrimination des métabolites les plus complexes *in vivo*, cette dernière est cependant moins répandue que sa consœur, dû à notre vait notamment à une implémentation moins directement accessible que la JPRESS et une méconnaissance des différents phénomènes sous-jacents, impactant le signal acquis. Le travail présenté dans cette thèse se concentre autour de la spectroscopie de corrélation et d'une variante à temps constant (Localized Constant Time Correlation Spectroscopy - L-CTCOSY), de son implémentation, son traitement, sa quantification et jusqu'à son application finale en préclinique.

La première partie de cette thèse se concentre sur la présentation des différents phénomènes de la spectroscopie RMN et de ses applications pour l'exploration *in vivo*. Les différentes caractéristiques des principales séquences y seront décrites. L'accent sur l'aspect quantitatif de ces méthodes sera présenté, notamment le manque de moyen fiable pour quantifier les signaux acquis par la spectroscopie de corrélation *in vivo*. A travers différents résultats provenant de la littérature, nous verrons l'intérêt porté vers la spectroscopie 2D et les différents outils de quantification utilisés.

Le second chapitre porte sur les séquences de corrélation développées et les outils associés pour le traitement et la quantification des spectres 2D. Ces développements sont inspirés des travaux réalisés par M.Albert Thomas [11] en clinique pour la LCOSY et de Watanabe pour la LCTCOSY [12] . Le principe de la procédure de quantification et son implémentation

y seront décrites. Cette dernière est une prolongation à deux dimensions de la méthode de quantification QUEST (Quantitation based on semi-parametric quantum estimation) utilisée en 1D [13] qui se base sur un à priori fort qui est une base de métabolite simulée à partir de leur description donnée par la mécanique quantique. Durant cette thèse, un outil de simulation récent a été utilisé pour obtenir cette base [14]. Une description est faite de cet outil de simulation et de son intégration dans l'environnement de la procédure de quantification proposée. Nous introduirons aussi l'utilisation d'une carte des inhomogénéités de champs statique afin d'obtenir une estimation de son influence sur les différentes composantes du spectre. L'application et l'exploration de la spectroscopie de corrélation est ensuite prospectée à travers une étude faisant l'objet d'un article dans le troisième chapitre. Cette dernière étude repose sur la validation de notre procédure de quantification et de sa comparaison à une séquence J-résolue pour une application *in vivo*. Il y sera démontré que la spectroscopie de corrélation est d'intérêt d'un point de vue quantitatif.

Enfin, le dernier chapitre explorera une application inédite de la SRM 2D de corrélation localisée pour l'exploration de la composition des triglycérides en situation *in vivo*. Nous verrons que la spectroscopie 1D est utilisée pour obtenir la composition en triglycérides du foie [15] et des lipides sous cutanés [16]. A travers la spectroscopie de corrélation, nous montrons la faisabilité de cette méthode et son utilisation pour l'obtention d'une information sur la composition des triglycérides à travers une méthode de quantification simple, mais aussi par l'utilisation de notre procédure à travers différents ajustements nécessaires.

Chapitre 1 :
Spectroscopie 2D quantitative *in vivo* :
Bibliographie et introduction.

I. Introduction

La spectroscopie de Résonance Magnétique (SRM) est une méthode analytique, en premier lieu utilisée en chimie, qui permet l'identification et la quantification des composés d'un échantillon. Sa principale différence avec l'Imagerie par Résonance Magnétique nucléaire (IRM) est l'obtention d'un spectre informant sur la physiologie et la biochimie de l'objet d'étude au lieu de l'image de ses structures (image anatomique pour les organismes vivants). IRM et SRM puisent toutes les deux leurs origines dans le principe de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN), décrit en 1946 par les prix Nobel Edward Purcell [17] et Felix Bloch [18] (Fig1a). En 1950, Erwin L. Hahn découvre l'écho de spin [19] (Fig1b) qui sera la base de la RMN moderne. La même année, W. Proctor et W. Dickinson découvrent indépendamment le phénomène de déplacement chimique [20] (Fig1c), qui sera une découverte fondamentale pour les applications de spectroscopie RMN en chimie organique.

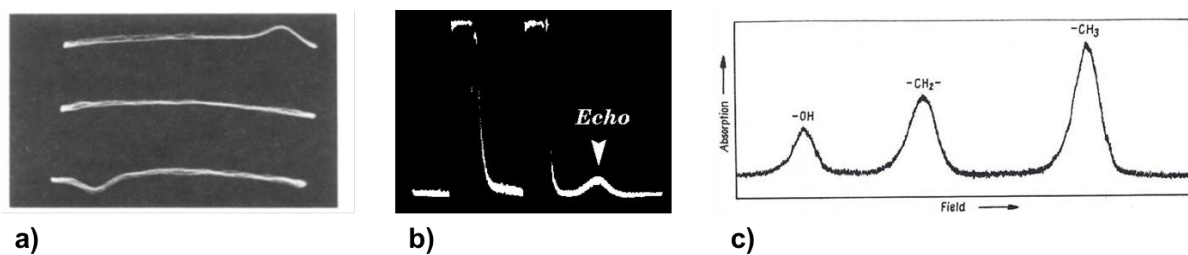


Figure 1 : a) Premier signaux RMN détecté. b) echo de Hahn c) Phénomène de déplacement chimique mis en évidence par W. Proctor.

A cette époque, la RMN était seulement utilisée pour déterminer le moment magnétique des noyaux. C'est seulement au milieu des années 1970 que la RMN fut véritablement utilisée pour analyser des composés *in vitro*. Lauterbur, Mansfield [21] et Grannell s'inspirent des travaux de thèse de 1952 de Robert Gabillard [22] en utilisant l'idée d'ajouter des gradients de champ en plus du champ magnétique statique pour déterminer la position du signal RMN,

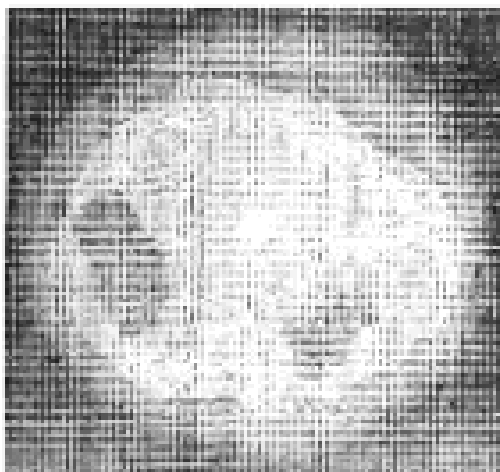


Figure 2 : Première image RMN issue de l'article publié par Paul Lauterbur en 1973 (Nature, 242,190, 1973).

leur permettant de produire la première image anatomique *in vivo*. A partir de ce moment, la RMN *in vivo* fut inventée et renommée IRM pour l'imagerie (notamment à cause du terme *nucléaire* effrayant à l'époque et associé à la médecine nucléaire dans la pratique). Suivant la même tendance, la spectroscopie RMN *in vivo* fut renommée SRM.

Dans les années 1980, le premier IRM à usage clinique était disponible. Depuis, bien des améliorations ont suivi, en termes notamment d'intensité des champs magnétiques disponibles, de gradients, d'impulsions, de séquences et enfin d'applications. La SRM permet d'obtenir un signal émanant de différents noyaux. Le proton (^1H) est le noyau le plus utilisé en clinique pour des applications sur le cerveau, principalement du fait de sa très grande sensibilité et de son abondance. Le spectre obtenu dans le cerveau sera altéré en fonction de la pathologie. Néanmoins les changements dans le spectre ne peuvent être compris sans une analyse quantitative et statistique entre des groupes de patients.

Dans ces cas, la SRM ^1H est principalement utilisée pour des recherches cliniques et précliniques. Dans ce manuscrit, la spectroscopie (généralement non localisée), permettant l'analyse chimique de composés, sera nommée spectroscopie de haute résolution (dû à la qualité des spectres obtenus où on se rapproche de spectres de raies) et celle qui concerne l'application *in vivo* de la méthode sera nommée SRM.

Nous allons voir qu'une problématique de la SRM repose sur le faible pouvoir de séparation entre les différentes fréquences du spectre ainsi que sur les phénomènes de relaxation, phénomènes clef *in vivo* atténuant le signal et rendant difficile la qualification et la quantification de certains métabolites, notamment ceux ayant une structure complexe et possédant des *couplages* scalaires (notions fondamentales de l'expression d'un spectre RMN comme nous le verrons).

Il existe différents moyens pour s'affranchir de ces contraintes, l'une d'entre elle est l'augmentation du champ statique B_0 qui permet d'augmenter la dispersion spectrale. Néanmoins, une telle augmentation s'accompagne en pratique de contraintes *in vivo*: inhomogénéités de champ plus grandes, augmentation de la puissance des impulsions et donc de la puissance absorbée par les tissus. De plus ces hauts champs sont rares. Les mesures *in vivo* impliquent des contraintes fortes en termes de temps d'acquisition, tests limités de reproductibilité, faibles concentrations des composés biochimiques étudiés, temps de relaxations courts. Ces contraintes sont moins remarquables en spectroscopie haute résolution des liquides. Néanmoins, le besoin de résolution spectrale supplémentaire reste une problématique commune à la *haute résolution* et à la SRM *in vivo*. Le développement *in vivo* de la spectroscopie commença dans les années 1980 par l'analyse de tissus post-mortem. L'un des principaux inconvénients était la présence d'une quantité importante d'eau

noyant littéralement les composantes spectrales des métabolites. Avec l'avènement des séquences dites de pré-saturation, le signal de l'eau est abaissé à l'amplitude des principaux pics des métabolites. Parallèlement en imagerie, le développement de séquences basées sur l'usage de gradients permet de diminuer le temps d'acquisition mais aussi d'augmenter la résolution.

Les différentes méthodes de quantification utilisées en spectroscopie in vivo seront abordées dans le paragraphe 2 de ce chapitre. Malgré ces développements, la spectroscopie peine à devenir un outil clinique principalement à cause de son long temps d'acquisition (5 min en moyenne pour une acquisition monovoxel comparé à une image obtenue en 2 min) et le manque de temps lors des examens, mais aussi par un manque de formation des praticiens. Du point de vue recherche préclinique et clinique, cet outil est de plus en plus utilisé pour comprendre certains phénomènes vivant (lipides, caractérisation métabolique des pathologies, infertilité).

Nous aborderons au cours de ce chapitre les phénomènes qui permettent d'analyser quantitativement un spectre RMN ainsi que ceux qui entachent sa compréhension (relaxation, enchevêtrement). Nous introduirons une technique issue de la spectroscopie haute résolution et appelée spectroscopie RMN 2D permettant de s'affranchir de la plupart des contraintes de la spectroscopie 1D et offrant une plus grande richesse d'information. Des applications de cette technique ont été réalisées à partir des années 90, débutées par A. Ziegler[23][24] en préclinique et poursuivies par le groupe de M.A Thomas (UCLA, Department of Radiology) en clinique [25][11][26]. Nous rappelons les bases physiques nécessaires à la compréhension du phénomène de RMN. Nous en donnons une description classique, et, dans un second temps du point de vue de la physique *dite* quantique. Nous verrons l'application de ce phénomène pour l'exploration du vivant à travers la spectroscopie 1D et la spectroscopie 2D. L'aspect quantitatif sera ensuite abordé et nous verrons les différentes solutions de quantification existantes en SRM1D et 2D.

II. Le phénomène de résonance magnétique nucléaire

1. Introduction

La spectroscopie est l'étude du spectre d'un phénomène physique. Le spectre est fonction du phénomène, on étudie les réponses du système physique étudié. Cette réponse

correspond à une transition énergétique et peut être caractérisée par une longueur d'onde (spectroscopie optique), un état d'énergie (spectroscopie de masse, gamma) ou une fréquence (spectroscopie de Fourier, spectroscopie RMN). Dans notre cas il s'agira de spectroscopie de résonance magnétique nucléaire. Nous rappelons une description du phénomène de résonance magnétique nucléaire, sa mise en application et comment obtenir une information provenant du vivant à partir de ce phénomène.

2. Le Magnétisme nucléaire

Un atome est composé d'un noyau et d'un cortège électronique composé d'électron orbitant autour de ce noyau. Le noyau est composé de proton et de neutron. Le nombre de proton et de neutron diffère en fonction de l'élément chimique considéré. Un proton élémentaire ^1H peut être approximé comme une particule sphérique tournant autour d'un axe \vec{I} comme indiqué sur la figure 3. Ce mouvement est associé à un moment cinétique de rotation dit moment nucléaire de spin représenté par un vecteur I . Ce moment est une propriété quantique des particules et peut prendre des valeurs quantifiées entières ou demi-entières. Le noyau aura ainsi un « spin » qui correspondra à la somme vectorielle des moments nucléaires de spin des particules le composant. Ce spin est représenté par un vecteur \vec{I} en rotation sur lui-même [27].

Au repos, ce moment prend une orientation aléatoire et en présence d'un champ magnétique statique externe \vec{B}_0 , les spins vont s'aligner selon ce dernier (Figure 3) et donner naissance à un couple lié au moment magnétique de spin $\vec{\mu}$. Cet effet n'est observable que si le spin est non nul.

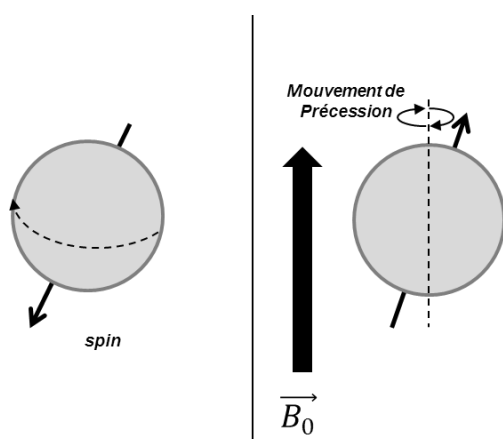


Figure 3 : Représentation schématisée de l'alignement du moment de spin d'un noyau en fonction de la présence d'un champ magnétique statique externe B_0 . Le spin sera alors animé d'un mouvement de précession autour d'un axe colinéaire avec le champ statique.

3. La fréquence de résonance ou fréquence de précession de Larmor

Ce moment magnétique aura un mouvement de précession dit de « Larmor » autour de l'axe du champ magnétique statique externe. Ce moment de précession s'explique par l'apparition d'un couple de torsion $\Gamma = \vec{\mu} \wedge \vec{B}_0$. Cette précession s'effectuera avec une vitesse angulaire ω_0 soit une fréquence $\nu_0 = \frac{\omega_0}{2\pi}$ aussi appelée fréquence de Larmor. Cette fréquence est la fréquence propre du spin nucléaire et varie avec l'intensité du champ statique externe (exprimé en Tesla) appliquée selon la relation :

$$\nu_0 = \frac{\gamma}{2\pi} \|\vec{B}_0\| \quad \nu_{0_0} : \text{Fréquence de Larmor (Hz)}$$

Le rapport gyromagnétique est le rapport entre moment magnétique et cinétique d'une particule. En RMN on se rapporte plus souvent au rapport $\frac{\gamma}{2\pi}$ en MHz/T et à celui du proton ^1H qui vaut 42,576 MHz/T. On voit que pour une fréquence de Larmor du proton de 200MHz, il faudra appliquer un champ ayant une intensité de 4,7T. La Figure 4 donne la fréquence de résonance pour les principaux champs magnétiques B_0 utilisés pour des applications cliniques et précliniques.

B_0 [T]	Resonance frequencies [MHz]	
	^1H	^{13}C
2.35	100	25.15
4.70	200	50.32
5.87	250	62.90
7.05	300	75.47
9.40	400	100.61
11.75	500	125.76
14.10	600	150.90
16.44	700	176.05
17.62	750	188.62
18.79	800	201.19
21.14	900	226.34
23.49	1000	251.48

Figure 4 : Fréquence de résonance et champs statique associé pour deux types de spins $\frac{1}{2}$ (Tiré de l'almanach Bruker 2010).

4. Résonance et niveaux d'énergie

Si on applique un champ magnétique extérieur, les noyaux interagissent différemment suivant l'état de leur moment magnétique. Ils ont alors des énergies différentes. On dit qu'il y a levée de dégénérescence du niveau d'énergie. Pour un spin demi entier subissant l'effet d'un champ magnétique statique extérieur, il y a aura deux niveaux d'énergie potentielle disponible permettant l'échange d'un quantum d'énergie $\Delta E = h\nu_0$ (où h est la constante de planck en J.s) à une fréquence de transition ν_0 . Pour un ensemble de spins $\frac{1}{2}$, on aura un peuplement des niveaux d'énergie selon la statistique de Boltzmann : $\frac{N_\beta}{N_\alpha} = \exp(-\frac{\Delta E}{k_B T})$ avec $\Delta E = h\nu_0$, $k_B = 1,38.10^{-23} \text{ m}^2.\text{kg}.\text{s}^{-2}.\text{K}^{-1}$ et T la température du milieu en Kelvin. Physiquement, le spin a la possibilité d'avoir deux positions énergétiques. L'état d'équilibre du système correspond à un va et vient incessant entre ces deux niveaux énergétique. Il y a un léger excès de population sur le niveau d'énergie le plus bas (et donc le plus stable) : cet état d'énergie est appelé α et le niveau le plus haut est appelé β . En amenant de l'énergie sous forme radiative à la fréquence $h\nu_0$ (impulsion radiofréquence), il y aura une transition énergétique $\alpha \rightarrow \beta$. Pour que cette transition soit observable il faut que les populations des deux niveaux soit suffisamment différentes et que l'écart entre les deux niveaux soit suffisamment grand. A température ambiante, il n'y a qu'un très petit excès de spins nucléaire dans l'état α . Les deux niveaux d'énergie s'écartent en fonction de B_0 , c'est l'effet Zeeman. Ainsi en augmentant le champ statique on augmente le rapport de population des deux niveaux d'énergie d'où la nécessité en pratique d'avoir des intensités de champs statique très élevées. La description quantique du phénomène de RMN peut être mis en relation avec la précédente représentation vectorielle de la précession autour d'un axe colinéaire au champ appliqué des moments magnétique des noyaux : les moments de même direction ou parallèle correspondent au niveau α et ceux de direction opposé ou antiparallèle au niveau β .

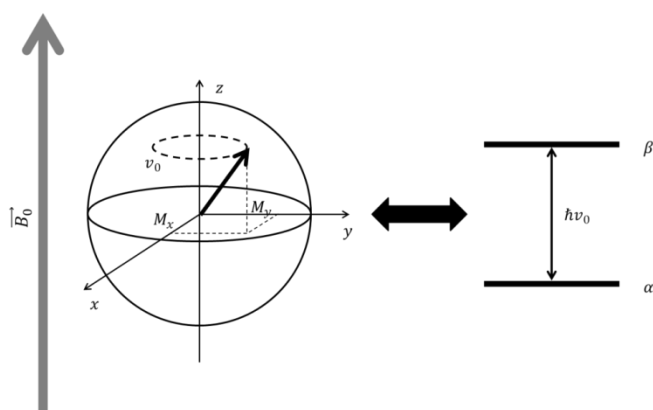


Figure 5 : Levée des dégénérescences d'énergie pour un spin en présence d'un champ magnétique statique.

5. Signal RMN

L'application d'un champ statique entraîne une levée de dégénérescence des niveaux d'énergie (Figure 5). Cette levée va permettre d'observer une transition énergétique entre ces niveaux : l'apport d'un quanta d'énergie à la fréquence de résonance permettra le passage d'un niveau à un autre pour un spin. Le retour à l'équilibre du système s'accompagnera alors d'une réémission de ce quanta sous forme radiofréquence : ce signal capté sera le signal RMN. Le modèle quantique permet de comprendre l'apparition de résonance : à une transition énergétique correspondra un pic dans le spectre. L'apport d'énergie se fait par l'application transitoire d'une onde radiofréquence (impulsion RF) dont la fréquence est proche de la fréquence de Larmor correspondant à un champ magnétique \vec{B}_1 de faible intensité qui induit le phénomène de nutation [28] : Les moments de spins vont alors précesser autour de \vec{B}_1 . Le système de spins est dans un état d'excédent d'énergie dit *état excité*. Selon l'intensité et la durée de l'impulsion, la rotation (ou basculement) de l'aimantation autour de B_1 est contrôlée. Ainsi, l'application d'une impulsion dite d'excitation (appelée aussi impulsion $\frac{\pi}{2}$ ou de 90°) va permettre de faire basculer l'aimantation dans le plan transverse.

Lorsque l'impulsion RF cesse, le système va revenir à l'équilibre, les composantes vectorielles des spins vont suivre un mouvement dit *de précession libre* régi par les équations de Bloch. Ce signal capté est caractéristique du signal RMN. Par la suite, on

parlera du signal RMN sous son appellation internationale : FID (Free Induction Decay). Le retour va se faire en deux étapes :

- Le déphasage des spins. Il est caractéristique de l'interaction énergétique des spins entre eux. Le signal capté sera rapidement atténué. On définit un temps caractéristique dit T2 au bout duquel 63% des spins ne sont plus en phase.
- Le retour à l'équilibre des spins. Il est caractérisé par un temps T1. Ce temps est de l'ordre de 10 fois plus grand que le temps T2. Il dépend de l'interaction des spins avec leur milieu.

Ces constantes de temps interviennent dans les équations de Bloch donnant l'évolution des projections de l'aimantation macroscopique des moments magnétique de spin.

Ainsi, la RMN est un phénomène relaxatif car le retour à l'équilibre passe par *l'induction d'un champ magnétique*. C'est ce dernier que l'on va observer dans nos expériences. Il est enregistré à l'aide de capteurs de champ et correspond au retour à l'équilibre des spins excités.

Le signal de RMN est donc un signal rapidement atténué par un phénomène de relaxation caractérisé par des constantes de temps T1 et T2. En excitant un groupe de spins à leur résonance avec une onde radiofréquence, on les places dans un état excité. L'aimantation macroscopique suivra alors une cinématique composée d'un mouvement de relaxation et de précession, elle ne sera alors plus colinéaire à l'axe du champ B0 (*dans la suite on se place dans un espace cartésien de l'espace et on considérera que le champ est colinéaire à la coordonnée z*). Elle va avoir un mouvement de précession autour de l'axe z à la fréquence de résonance. Pour observer le signal de RMN, on utilise un capteur de champ positionné dans le plan xy. Ce dernier va mesurer la projection de l'aimantation dans ce plan après une impulsion dite d'angle de bascule à 90° (ou impulsion 90°, càd une impulsion possédant l'énergie de transition nécessaire pour que l'aimantation macroscopique soit totalement dans le plan xy).

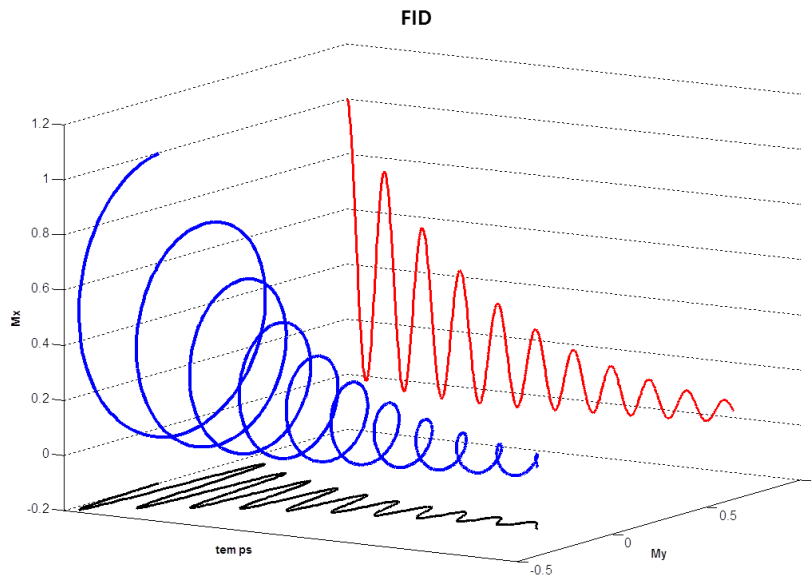


Figure 6 : En bleu : Représentation du FID complexe acquis correspondant à la projection de la magnétisation dans le plan xy. En rouge : projection en x. En noir : projection en y.

Le signal qu'on observe après une impulsion RF de 90° est un signal dû à la précession des spins dans le plan d'observation xy.

En pratique ce signal est pondéré par une constante de relaxation $T2^*$. Ce $T2^*$ diffère du $T2$ *intrinsèque* des spins observés car il prend en compte les effets des inhomogénéités de champ statique B_0 . En effet, il est difficile d'obtenir un champ statique élevé suffisamment stable dans le temps et l'espace, notamment en présence d'un échantillon contenant des effets de susceptibilité magnétique. Les spins vont voir ces perturbations comme une gêne accentuant leur déphasage. La relaxation que l'on verra sera donc entaché d'un phénomène de relaxation dû aux inhomogénéités dit *$T2inh$* . On verra dans la suite de cette thèse les moyens pour partiellement corriger les inhomogénéités de champs affectant le *$T2inh$* (shim, fieldmap) mais aussi que l'on peut mesurer ces inhomogénéités et les introduire en tant que connaissance dans un processus de quantification.

6. Écho de Hahn

Comme on l'a vu, le FID est pondéré par une relaxation caractérisée par la constante de temps $T2^*$. La relaxation résultante est donc très rapide dû au déphasage entre les aimantations. Il faut, en pratique, presque 1 s pour acquérir le signal après avoir appliqué une impulsion. Il existe un moyen de contourner cette limitation basé sur le phénomène physique connu sous le nom d'écho de Hahn [19]. En appliquant une première impulsion, on fait basculer l'aimantation d'un groupe de spin vers le plan transverse Figure 7, dû aux

inhomogénéités de champ ou à la localisation des spins, les fréquences de Larmor de différentes portions de l'échantillon peuvent différer légèrement. En conséquence, dans le repère du laboratoire tournant à la fréquence de Larmor moyenne, les vecteurs aimantations de ces diverses portions vont se déphaser. En appliquant une seconde impulsion RF de 180° dite de *refocalisation*, les spins vont se rephaser et les aimantations seront focalisées à nouveau, donnant **un écho**. Une telle séquence utilisant des impulsions 90° - 180° comme présenté dans la Figure 7 est appelée écho de spin. En se basant sur le temps entre les impulsions on peut prévoir le moment de la formation de l'écho, soit son temps d'écho (TE). L'intensité de l'écho obtenu sera pondérée seulement en T2. Ce phénomène est à la base de la plupart des séquences de SRM actuelles. Le FID acquis, après une transformée de Fourier de ce dernier, permet l'obtention d'un spectre donnant la proportion de proton résonant pour une fréquence. Pour les protons de l'eau, cette fréquence correspond à la fréquence de Larmor. Nous allons voir dans la suite que l'on peut obtenir la réponse fréquentielle de protons autre que ceux de l'eau, notamment ceux de métabolites.

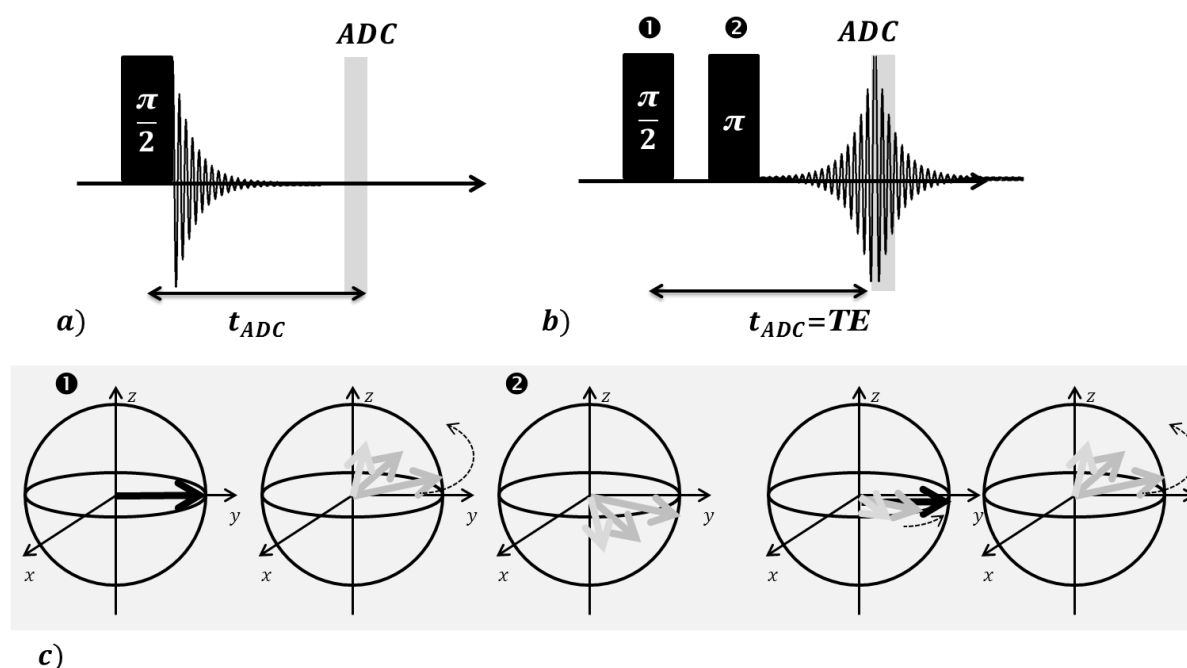


Figure 7 : a) FID obtenu après une impulsion de 90° . Le temps d'activation de notre instrument de mesure (représenté par un ADC, *analog-to-digital converter*) est trop long pour acquérir le FID b) Écho de spin obtenu après l'application d'un motif d'impulsion 90° - 180° . Le phénomène d'écho de Hahn permet de relocaliser dans le temps le signal RMN à un temps d'écho dit *TE* de manière à ce qu'il puisse être facilement acquis avec notre instrument de mesure. c) cinématique de l'évolution de l'aimantation des spins soumis au schéma d'impulsion b).

7. Le déplacement chimique :

Une molécule telle un métabolite possède différents groupements chimiques. Ces groupements sont pour la plupart carbonés et contiennent des groupements méthyl, méthylène, méthine possédant des protons (^1H). En spectroscopie proton, ce sont ces groupements qui vont être soumis au phénomène de résonance et permettre d'avoir une information qualitative et quantitative.

Du fait de leur appartenance à des groupements propres à une molécule, ces protons ne possèdent pas la même résonance que les protons appartenant à la molécule d'eau. Dans une molécule, les atomes sont liés entre eux par des liaisons dites *covalentes*. Cette liaison correspond à une mise en commun d'électrons des orbitales atomiques des atomes. Cette mise en commun est faite de façon dynamique, les électrons vont circuler selon une distribution que l'on appelle orbitales. Les électrons, possédant une charge et circulant, un champ magnétique local associé sera induit. L'environnement électronique de chaque noyau va créer des effets diamagnétiques qui vont diminuer le champ ressenti par les noyaux. Ce champ local est caractérisé par une constante d'écran caractérisant les différents effets diamagnétiques. Il existe aussi des effets paramagnétiques dus à la géométrie des molécules, comme pour les groupements aromatiques où la circulation des électrons délocalisés va augmenter le champ ressenti par les noyaux. Pour une molécule on définit les différents effets par une constante d'écran :

$$\sigma = \sigma_{dia} + \sigma_{para}$$

Le champ local appliqué au groupement sera alors :

$$B_{Local} = B_0(1 - \sigma)$$

La fréquence de résonance sera alors modifiée :

$$\nu = \frac{\gamma}{2\pi} B_{local} = \frac{\gamma}{2\pi} B_0(1 - \sigma) = \nu_0 - \frac{\gamma}{2\pi} B_0 \sigma = \nu_0 - \nu_s$$

Ce champ va se superposer au champ B_0 appliqué et ainsi déplacer la fréquence de résonance des protons du groupement : c'est ce qu'on appelle le déplacement chimique qui est une conséquence de l'effet Zeeman. D'un point de vue quantique, un décalage de la fréquence de résonance correspondra à une transition énergétique différente (Figure 8).

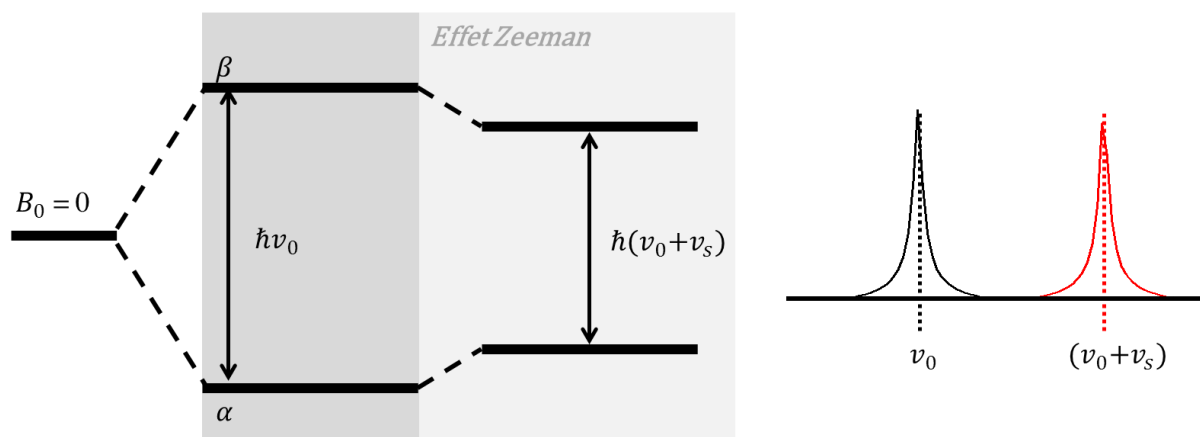


Figure 8 : Une modification des niveaux d'énergie par effet Zeeman opérera un décalage de la fréquence de résonance.

Ce déplacement chimique est spécifique à une configuration électronique, donc à la position d'un groupement d'une molécule et permet d'en déduire la structure de cette dernière : c'est ce qui est fait en spectroscopie haute résolution. *In vivo* on connaît la plupart des métabolites à observer, c'est pour cela qu'on utilise la spectroscopie à des fins d'observation des composés et de quantification, quand le composé est en concentration suffisante, et quand les temps de relaxation sont suffisamment longs. Le déplacement chimique est défini comme le rapport de la différence de fréquence du proton blindé ν_s par rapport à une fréquence de référence ν_{ref} et de la fréquence de travail ν_0 (i.e. fréquence de résonance du proton pour le champ utilisé).

$$\delta = \frac{\nu_s - \nu_{ref}}{\nu_0} 10^6$$

Ce rapport est exprimé en ppm (partie par million). On définit une fréquence de référence ν_{ref} à partir d'un composé stable à température ambiante et ayant un pH stable en spectroscopie ^1H , ^{13}C et ^{29}Si : le Tétraméthylsilane (TMS). Ce composé aura une résonance fixée à 0 ppm. En utilisant ce rapport de fréquence, on s'affranchit de la notion de fréquence de résonance dépendante du champ utilisé pour exprimer la résonance d'un groupement. On parlera par exemple du singulet à 3.02 ppm de la Créatine aussi bien à 1.5T qu'à 9.4T et correspondant toujours au groupement $\text{N}(\text{CH}_3)$ de ce métabolite en spectroscopie proton.

8. Le phénomène de couplage scalaire.

Dans une molécule, les groupements résonants sont généralement proches. Ces groupements peuvent être approximés comme un système de dipôles magnétiques. Ils vont interagir via une interaction magnétique dipôle-dipôle. Cette interaction va donner lieu à une perturbation qui va affecter leur état d'énergie respectif et donc leur résonance. Elle peut

avoir lieu de manière spatiale (deux groupements proches, on parlera alors de couplage dipolaire direct) ou via les électrons de valences des orbitales moléculaires de liaison π (couplage scalaire). En situation liquide, le mouvement moléculaire fait que le mouvement dipolaire moyen est nul. Dans nos applications, on approximera par la suite le cas *in vivo* comme proche d'un milieu liquide et on s'affranchira des interactions dipolaires et on ne considérera que le cas du couplage scalaire. L'interaction de couplage scalaire est due à un phénomène d'appariement d'électrons entre deux groupements. Elle est caractérisée par une constante de couplage scalaire J . Une illustration de cet effet de couplage J est donnée en Figure 9 pour les groupements d'une molécule de Lactate résonnant à 4.1 et 1.3 ppm. En pratique, la résonance de ces groupements ne correspond pas à des singulets (raie unique), mais à l'apparition d'une subdivision de pics de résonance le long d'une certaine plage de fréquence. Ce phénomène est dû au couplage scalaire.

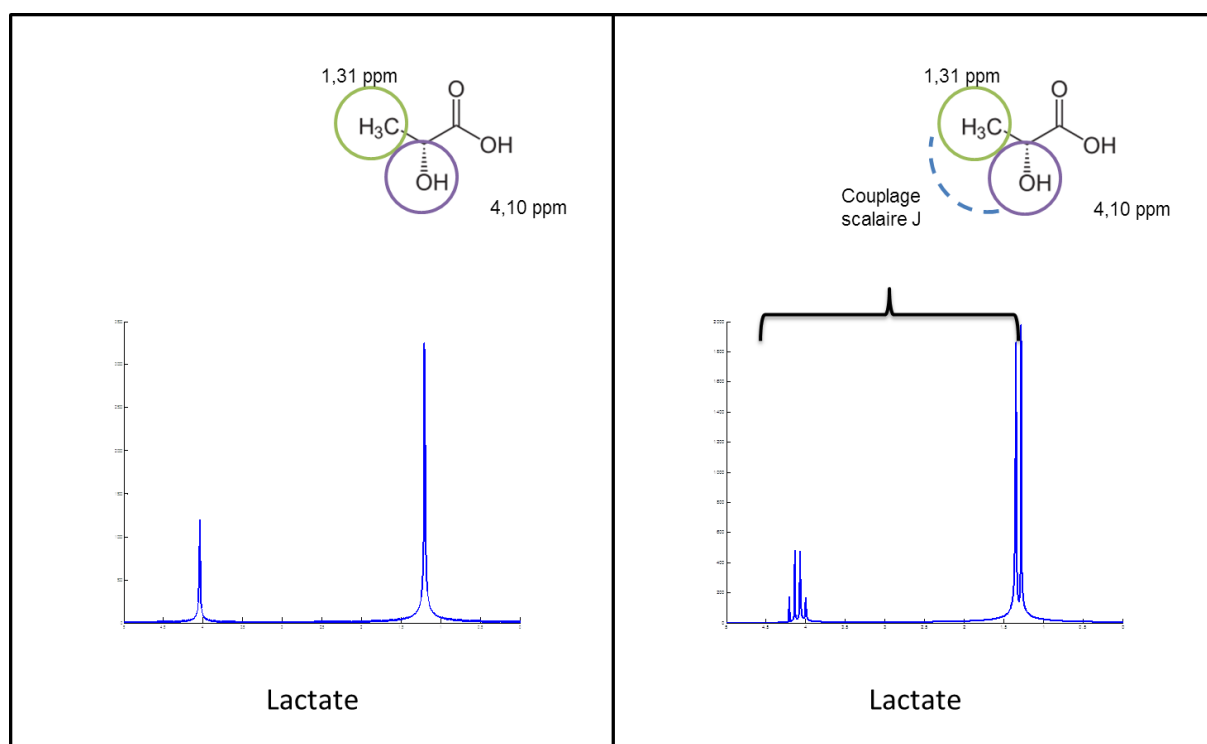


Figure 9 : Effet du couplage scalaire dans un spectre. Exemple d'une molécule de Lactate. À gauche : Interaction dû à l'effet de déplacement chimique : on a alors deux singulets dont l'aire correspond directement au nombre de protons résonants. À droite : Effet du couplage scalaire sur les résonances. Un éclatement des résonances apparait. Pour connaître le nombre de protons résonants, il faut prendre en compte l'aire totale du multiplet correspondant au groupement.

En considérant la définition du déplacement chimique, on voit que pour augmenter la résolution spectrale, il suffirait d'augmenter le champ statique B_0 . Cependant pour l'utilisation de la méthode de SRM en clinique, l'utilisation de champ B_0 statique élevé ($>3T$) est réglementé et est difficilement accessible. De plus, en augmentant ce champ, on verra

l'apparition d'inhomogénéités plus importante à compenser et de temps de relaxation T2 pondérant fortement le signal (i.e. ayant des valeurs de plus en plus courtes).

La résolution spectrale atteignable est limitée par l'intensité du champ statique disponible (dans notre cas, la plupart des acquisitions seront faites à 4.7T, et de façon moindre à 7T) et ne permettra pas forcément de discerner toutes les contributions métaboliques, notamment dans le foie avec des résonances s'enchevêtrant ou dans le cerveau où il existe une contribution macromoléculaire dont l'attribution aux lipides et protéines est peu connue et entache l'observation de composés de taille plus petites, présents en faible concentration. Il existe des techniques de spectroscopie permettant de s'affranchir de ces limitations entachant la résolution, comme les techniques dites d'édition, qui par une séquence dédiée permet d'acquérir une molécule cible en éliminant les composés qui gênent sa discrimination [29] ou alors en jouant sur le temps de relaxation des composés à observer comme les techniques d'inversion-saturation pour l'édition des macromolécules (protéines, polypeptides et lipides) [30][31]. La résolution spectrale est l'un des principaux facteurs limitant pour la SRM *in vivo*. Nous retraçons à présent les principales caractéristiques de l'application *in vivo* de la SRM.

III. Applications du phénomène de RMN

1. Application en haute résolution

La spectroscopie est un outil d'analyse permettant de discriminer les différents groupements chimiques d'un composé. Son application dans le domaine de la chimie est donc d'un grand intérêt. Il existe deux principales utilisations de la spectroscopie haute résolution : en milieu solide et liquide. La différence entre ces deux milieux réside principalement dans les phénomènes de relaxation mis en jeu et l'apparition de phénomènes dus à l'orientation des spins dans le milieu solide.

2. Application in vivo

a) Imagerie

L'imagerie s'est principalement développée depuis l'introduction des gradients de champs pour déterminer l'origine des ondes radio émises par les noyaux de l'objet et l'utilisation de la transformée de Fourier, raccourcissant amplement le temps d'acquisition. L'imagerie repose en première approche sur le codage en fréquence et en phase du volume d'intérêt à imager par l'application de gradients de champ faisant de la fréquence de résonance une fonction linéaire de la position (Figure 10).

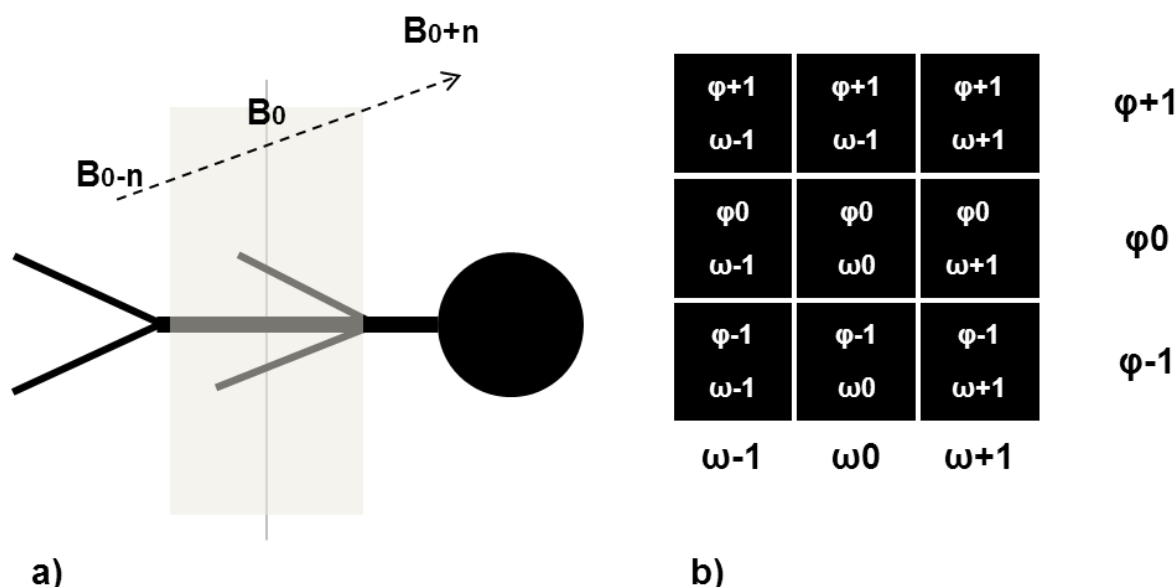


Figure 10 : a) Application de gradient de champ pour le codage en fréquence et en phase : seul les protons sélectionnés par le gradient vont être excités (en gris clair). b) Un gradient va encoder en phase l'espace et l'application d'un gradient dit d'encodage en fréquence va permettre de discriminer en fréquence cet espace encodé donnant une matrice d'acquisition.

b) Spectroscopie RMN Localisée

L'imagerie par résonance magnétique (IRM), basée principalement sur le signal des protons de l'eau, permet d'obtenir des informations anatomiques et fonctionnelles sur un être vivant. Elle permet de voir l'eau tissulaire et celle-ci ayant un temps de relaxation et une concentration différente suivant les tissus permet de mettre en évidence les structures. En jouant sur la différence de déplacement chimique existant entre l'eau et le pic principal des lipides, l'IRM peut différencier les tissus contenant principalement de la graisse des tissus où l'eau est majoritaire. Au-delà, on ne peut remonter à la présence ou non de métabolites, molécules de petites tailles présentes en de plus faibles concentrations qui traduisent une activité métabolique. La SRM permet de donner accès aux marqueurs biochimiques que sont les métabolites. Après acquisition et traitement, elle permet de remonter jusqu'à la concentration des métabolites et ainsi caractériser certaines pathologies ou phénomènes pathologiques. Par exemple le N-Acétyle Aspartate (NAA) est un marqueur neuronal, sa concentration reste constante dans un cerveau sain, une baisse de sa concentration est souvent associée à une pathologie cérébrale. Pour avoir accès à cette concentration, un processus de quantification faisant l'objet du prochain paragraphe, est réalisé. La SRM a elle aussi profitée des avancées liées à l'utilisation des gradients de champ, pour la localisation d'un volume d'intérêt et la suppression du signal de l'eau, mais elle a aussi bénéficié de la montée en champs statique B_0 . La spectroscopie s'est appliquée *in vivo* bien avant l'utilisation de gradient et consistait à récupérer le signal en provenance d'une zone d'intérêt en utilisant des antennes de réception locales (i.e. de surface) mais cette technique n'était pas assez locale pour un usage clinique puisque le signal provenait de l'intégration de tout le volume sensible de l'antenne.

Une des premières séquences localisée utilisée pour une application *in vivo* est la séquence de spectroscopie dite PRESS [32] (Figure 11). Trois impulsions sont rendues sélectives à l'aide de gradient de sélection de coupe dans les trois directions spatiales (G_x, G_y, G_z). Ces impulsions permettent chacune de sélectionner un plan de l'espace, le signal résultant proviendra de l'intersection de ces trois plans.

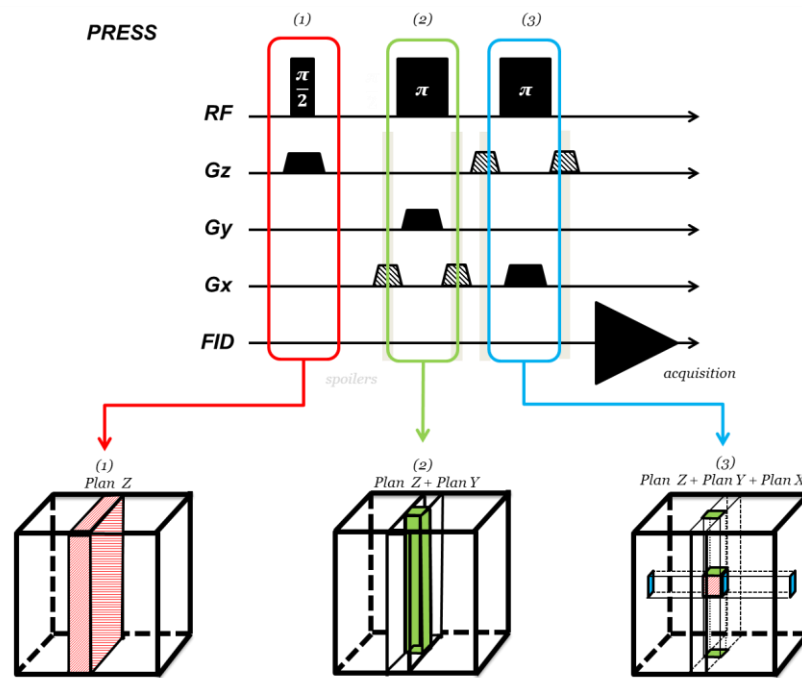


Figure 11 : Localisation d'un volume dans l'espace à l'aide de trois gradients magnétique dans trois directions différentes permettant de rendre sélectif en fréquence le volume à sélectionner. En utilisant des impulsions radiofréquences pour sélectionner une bande de fréquence on sélectionne une tranche de l'espace. L'intersection des trois plans de fréquences sélectionnés permet de localiser un volume dans l'espace comme présenté. L'utilisation du schéma d'impulsions 90-180-180 est une séquence de type écho de Hahn () ou plus communément appelé écho de spin. Ce schéma d'impulsion permet de former un écho de Hahn/de spin qui correspond à la refocalisation de la magnétisation des spins le long du plan transverse dans le référentiel tournant du spin. Quand la majorité de la magnétisation des spins aura atteint le plan transverse, l'écho ainsi formé aura une amplitude maximale. À cette amplitude maximale correspondra un temps dit temps d'écho (TE) pouvant se calculer en fonction des durées impliquées dans la séquence.

Conjugué à des méthodes d'ajustement numérique requérant des techniques du traitement du signal, on peut retrouver une information sur la concentration des métabolites, mais aussi de relaxation. Au niveau cérébral, la SRM permet de détecter et de suivre les variations de concentration d'un certain nombre de métabolites [33][34][35][36] :

- **Glutamate/Glutamine** : Le glutamate est le neurotransmetteur exciteur le plus répandu dans le système nerveux central (SNC). C'est un précurseur du **GABA** dans les neurones GABAergiques. Le glutamate, lorsqu'il n'est pas capté par les récepteurs post-synaptiques, est capté par les cellules gliales et alors métabolisé en glutamine.
- **N-Acetyl Aspartate (NAA)** : C'est un des métabolites les plus abondants dans le cerveau après le glutamate. Il n'a pas de rôle direct de neurotransmetteur. Présent quasi uniquement dans les neurones, on l'utilise en SRM comme marqueur du dysfonctionnement neuronal.
- **Lactate (Lac)** : Produit final de la glycolyse anaérobie, il est caractéristique dans les spectres d'une mort neuronale.

- **Acide γ -aminobutyrique (GABA)** : Principal neurotransmetteur inhibiteur. Il joue le rôle de neuro-modulateur en inhibant les effets du glutamate.
- **Myo-inositol (MIn)** : Important à cause du rôle des phosphates inositols dans la transmission cellulaire. Il jouerait un rôle dans la régulation osmotique et est considéré comme un marqueur glial fonctionnel.
- **Résidus Choline (rCho)**: Les signaux détectables en SRM proviennent des dérivés phosphoryl et glycérophosphorylcholine qui sont impliqués dans les voies de synthèse et de dégradation membranaires.
- **Taurine (Tau)**: Lui sont associées plusieurs fonctions biologiques dont l'osmo-régulation et la modulation du calcium ainsi que la modulation de l'action de neurotransmetteur. Sa concentration décroît avec l'âge.
- **Créatine/Phosphocréatine (Cr/PCr)** : La PCr permet notamment la conversion de l'ADP en ATP. La concentration globale de PCr/Cr étant stable *in vivo*, leur signal commun à 3,0 ppm est couramment utilisé comme référence interne de concentration.
- **Résidus Phosphoryl-Ethanolamine (PE)** : Fonctions analogues à celles des résidus choline.

Ces différents métabolites apportent une information en tant que marqueur d'un processus métabolique. Ces métabolites ne sont pas exclusifs au cerveau et peuvent se retrouver dans d'autres processus métaboliques, d'autres organes ou phénomène (e.g. le Lactate [37]).

L'augmentation de l'intensité du champ magnétique (augmentant la dispersion spectrale) et la possibilité d'acquérir des spectres à des TE courts (<10 ms) a permis d'observer jusqu'à 20 métabolites chez l'animal [38][39] et permet via un processus de quantification d'établir un profil neurochimique.

La SRM proton a été d'abord développée pour l'étude *in vivo* du métabolisme cérébral. Cependant d'autres organes peuvent être étudiés par SRM ; par exemple le sein, le muscles, la prostate, ou encore le foie. Le principe d'acquisition est le même que celui exposé, mais des ajustements en pratiques peuvent être nécessaire : notamment lorsque l'organe est mobile il faut nécessairement utiliser des modules de synchronisation lors de l'acquisition ou pour le processus de quantification. Nous verrons dans la suite de ce manuscrit (chapitre 4) une application hors cerveau de la SRM, notamment 2D pour l'étude des lipides.

c) Facteurs perturbant les expériences de SRM proton in vivo :

1) Suppression du signal de l'eau

En SRM *in vivo* du cerveau, la présence d'un pic d'eau recouvre dans le spectre la contribution des métabolites. Le signal de l'eau est abondant en comparaison du signal des métabolites ($\times 10^4$). Lors de l'acquisition, l'utilisation de technique de saturation du signal de l'eau tel que VAPOR ou CHESS est utilisé afin d'atténuer cette forte contribution. Ces techniques sont des modules utilisés avant la séquence d'impulsion de la séquence permettant de déphaser les spins de l'eau en dehors du plan transverse, elles permettent de défocaliser les spins de l'eau de manière à ce que la contribution de la composante macroscopique de l'aimantation des spins de l'eau soit minime dans le plan transverse.

2) Spectroscopie 1D : Enchevêtrement et recouvrement spectral

Le profil métabolique ne peut être établi qu'en présence de spectres d'une qualité suffisante pour être quantifié. Cela est d'autant plus difficile *in vivo* dû aux phénomènes de relaxation (T_2 et T_2 inhomogène principalement) provoquant une atténuation du signal et une augmentation de la largeur à mi-hauteur des pics du spectre. Pour les métabolites ayant une signature spectrale assez proche, soit des pics proches en fréquence, on aura également un phénomène d'enchevêtrement spectral (Figure 12).

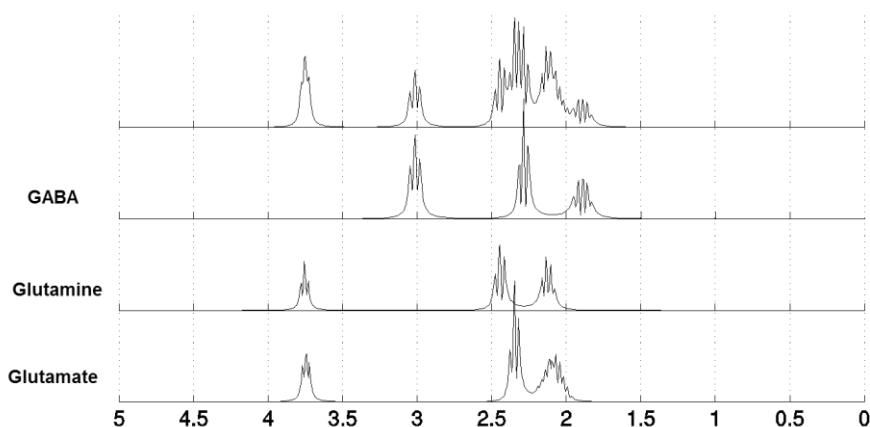


Figure 12 : Spectre RMN simulé à 7T du Glutamate, Glutamine, GABA illustrant le problème de l'enchevêtrement spectral en SRM1D.

Ainsi, l'enchevêtrement est accentué par les phénomènes de relaxation. La relaxation due aux inhomogénéités peut être atténuée par l'utilisation de gradient d'ajustement de champ magnétique (dit de *shim*), ces derniers vont essayer de rétablir la *linéarité spatiale* du champ statique B_0 .

3. La spectroscopie à 2 dimensions de fréquence

Nous avons vu qu'un des principaux problèmes de la SRM 1D est l'enchevêtrement spectral, pouvant être partiellement résolu en augmentant le champ B_0 . Il existe cependant une méthode permettant d'augmenter la résolution spectrale en SRM : la Spectroscopie à 2 dimensions spectrales (SRM 2D). Cette méthode permet d'obtenir une information spectrale supplémentaire et donc de discriminer plus facilement les composés des spectres en comparaison à la SRM 1D. Cette méthode, énoncée en 1971 par J. Jeener lors du congrès Ampère en ex-Yougoslavie et mise en application par Aue et Ernst est basée sur l'incrémentation d'un délai dans une séquence d'impulsion [40]. En utilisant ce principe simple, on obtient des spectres ayant deux dimensions de fréquence après double transformée de Fourier des signaux temporels acquis. Ces dimensions correspondent à la dimension *classique du FID* (t_2 en temporel et f_2 en fréquentiel) et une autre dû à cette durée incrémentée (t_1 et f_1). En fonction de la séquence d'impulsion utilisée et de la façon d'intégrer cette durée incrémentale dans la séquence, différents effets seront exprimés dans ces dimensions. Il existe deux **principaux** types de spectroscopie 2D : la spectroscopie dite de **corrélation** et la spectroscopie **J-résolue**. Une séquence de SRM 2D est basée sur la succession de quatre périodes principales : la préparation, l'évolution, le mélange, la détection

La Figure 13 illustre l'*idée de Jeener* pour une séquence à deux impulsions :

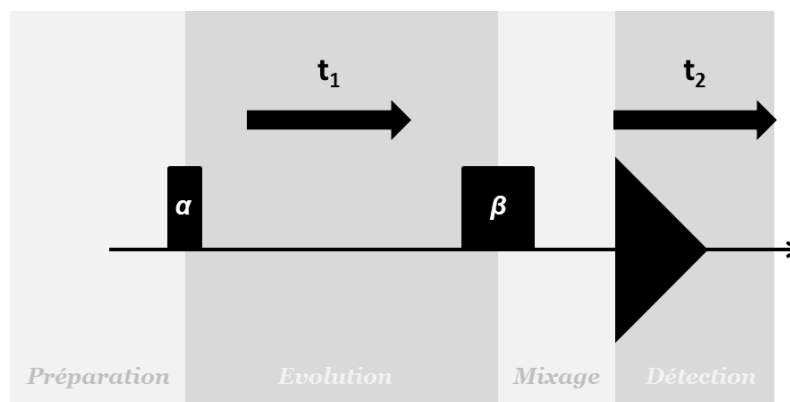


Figure 13 : Idée de Jeener pour une séquence deux impulsions. On distingue quatre périodes dans la séquence correspondant à un effet sur les spins. Dans la période de préparation les spins sont excités par une ou plusieurs impulsions RF. L'aimantation résultante va alors évoluer durant une durée t_1 , obtenue par l'incrément temporel. Une période de mixage constituée d'une ou plusieurs impulsions va alors permettre un transfert d'aimantation entre différents spins. Après cette période le FID est enregistré pendant la période de détection (t_2).

La spectroscopie de corrélation permet d'avoir accès à une information de couplage scalaire entre les différents composés du spectre et permet de mettre entre évidence la connectivité d'un groupement chimique par rapport à un autre. **La spectroscopie J-résolue**

permet de mesurer les constantes de couplage scalaire des composés couplés (possédant une constante de couplage J) dans le spectre.

L'obtention de ces caractéristiques est obtenue en jouant sur les impulsions de la séquence. En prenant exemple de la séquence de la Figure 13, pour un angle $\alpha=90^\circ$, si on applique une impulsion $\beta=180^\circ$, les effets de déplacement chimiques sont refocalisés durant la période de mélange, alors que les couplages scalaires continuent d'évoluer. Pour cet écho de Hahn, au temps d'écho (temps de refocalisation des déplacements chimiques), seule la perte de signal dû à la relaxation T_2 atténue l'aimantation résultante et les couplages scalaires et déplacements chimiques s'exprimeront au moment de la période de détection (acquisition de la dimension directe en t_2). Ce schéma d'impulsion est à la base des séquences dites J-résolue. Pour une impulsion $\alpha=90^\circ$ et $\beta=90^\circ$, on obtiendra une évolution à la fois en déplacement chimique et en couplage scalaire pendant la période d'évolution et de détection, avec transfert de cohérence, comme nous le verrons, pour les spins couplés, au moment de la deuxième impulsion 90° .

Comme en SRM 1D, le signal obtenu pendant la période de détection (Free Induction Decay, FID, signal de précession libre) est un signal capté de manière analogique par les capteurs de réception et converti sous forme numérique à l'aide d'un convertisseur analogique numérique (CAN). La Figure 14 indique les différentes étapes de l'obtention d'un spectre 2D. Le signal acquis est stocké dans une matrice de $n_2 \times n_1$ points correspondant aux nombres de point, avec n_2 le nombre de points dans la dimension acquise (directe) et n_1 le nombre de pas d'incrément (Figure 4.a). En faisant une transformée de Fourier discrète (FFT) le long de la dimension directe (t_2), on obtient un interférogramme (Figure 4.b) c'est à dire un ensemble de spectre 1D dont l'amplitude va varier en fonction du temps t_1 . Cette variation sera fonction de la séquence choisie. *In vivo* l'évolution de cette amplitude sera beaucoup liée à des phénomènes de relaxation mais aussi à la J-modulation et aux effets des déplacements chimiques. Enfin une seconde transformée de Fourier discrète est appliquée selon la dimension indirecte (t_1) pour obtenir le spectre 2D (Figure 4.c).

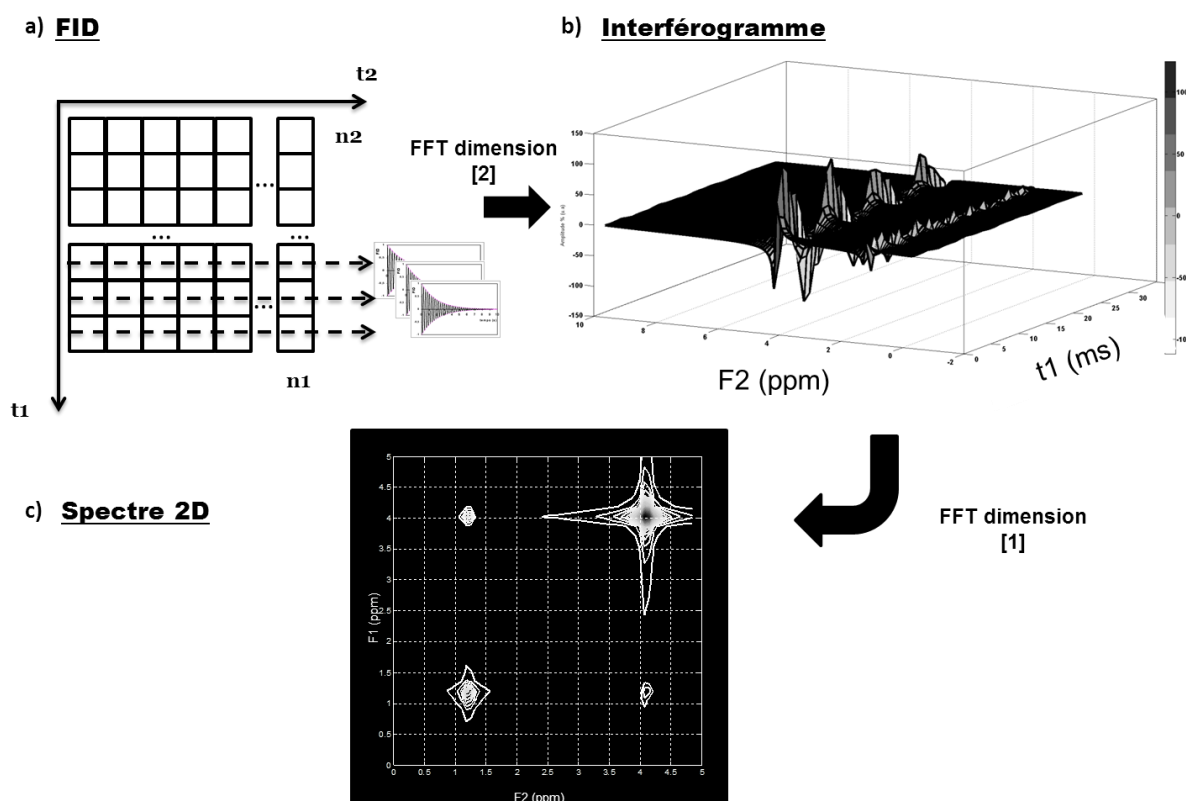


Figure 14 : Stockage du FID et obtention du spectre 2D après transformée de Fourier discrète 2D (FFT 2D). Exemple en LCOSY sur un échantillon de Lactate.

Nous étudierons dans la suite de ce manuscrit l'utilisation de trois types de séquence localisée basés sur la spectroscopie de corrélation et J-résolue. La spectroscopie de corrélation a commencé à être utilisée pour des applications *in vivo* dès le début des années 90. Ces séquences reposaient sur une localisation par placement de l'antenne d'excitation et étaient héritées de la chimie analytique [41]. Ainsi malgré les problèmes concernant la suppression du pic de l'eau, de relaxation et d'inhomogénéités et inhérent au domaine *in vivo* des spectres étaient obtenus. Dû à la faible sensibilité de l'antenne, du rapport signal à bruit faible, les différents pics dans le spectre apparaissent avec une faible intensité.

Les séquences utilisées dans cette thèse, dont le développement est décrit au chapitre 2 adoptent un motif de localisation similaire à la séquence PRESS, permettant de localiser un volume dans l'espace à l'aide de gradient et bénéficiant des avancées de l'époque en termes de saturation extérieur du signal du volume d'intérêt permettant d'améliorer la sélection de volume via l'atténuation du signal non d'intérêt, mais aussi des techniques moderne de suppression de signal de l'eau que sont les modules CHESS et VAPOR.

4. Application de la SRM2D in vivo

Le Tableau 1 résume les principales séquences de SRM2D utilisées dans la littérature à la fois en clinique et préclinique en essayant de mettre l'accent sur les résultats quantitatifs.

Année	Réf	But	Séquence	Paramètres	Temps Acquisition	Application	Observations
1990	[41]	Étude du métabolisme <i>in vivo</i> du cerveau de rat avant après ischémie	COSY/SUPERCOSY (haute résolution)	400Mhz/ 9.4T Antenne maison NA = 128 TR = 2000ms	1h10	Comparaison : extrait de cerveau ex vivo / métabolites ex vivo / spectre in vivo	Observations de corrélation. Les principaux métabolites neurotransmetteur (GABA, Glu/Gln, Asp) sont visibles et leurs taches de corrélation diminuent après ischémie
1991	[42]	Test des séquences 2D pour l'identification de résonances dans le tissu de cerveau de rat.	COSY/JRES	x	x	Attribution des résonances entre 0.8 et 4.5 ppm dans les spectres	Attribution des résonances : Lac, Thr Ala, GABA, NAA, Asp, Glu, Gln, Tau, mIns. Le pic à 1.33 ppm habituellement assigné au Lac en 1D est en fait constitué de deux pics enchevêtré visible COSY.
1995	[43]	Implémentation de séquence 2D sur un imageur clinique	JPRESS ; SECSY, LCOSY (+variantes multi quantas : ZQ, DQ, ZQF,)	1.5T NA = 20 TR = 2200ms Pts= 50x1024 Fe = 640x640Hz	51 min	Étude de la faisabilité de la SRM 2D sur un imageur clinique	Test sur un fantôme de métabolites cérébraux pour déterminer quelle séquence est exploitable cliniquement. Test in vivo sur cerveau : les séquences MQ diminue le signal des singulets. Les séquences ZQ semblent plus appropriées à cause des inhomogénéités de champs B0.
1995	[24]	Optimisation de séquence de corrélation pour une utilisation in vivo et ex vivo	COSY/SECSY (localisation avec une antenne de surface)	4.7T Pts =128x512 Fe =2000x2000Hz NA= varie en fonction de t1 Intégration (?) Antenne surface	10 min	Cerveau de rat avec tumeur.	Proposition d'une alternative à la COSY : motif SECSY. Filtre temporel pour augmenter RSB. Choix de l'échantillonnage en fonction du transfert de cohérence. Accumulation pondérée en fonction de la plage t1.
1998	[44]	Étude de la régénération des muscles	COSY	400Mhz/9.4T Pts = 256x1024	40 min	Comparaison de spectre 2D de souris ayant une lésion du muscle de la patte avec histologie.	On observe un signal de corrélation croisée spécifique pour les souris ayant une dégénération musculaire. Ce signal est suggéré d'être issu d'un acide de type linoléique. Spectre 2D des lipides du muscle in vivo
2001	[45]	Développement d'une séquence LCOSY à double localisation	LCOSY Avec double 180°+codage d'Hadamard	4.7T Pts =80x512 Fe =2000x2000Hz TR = 2500ms TE = 13 ms NA = 8 Intégration Antenne surf/volumique	20-40 min	Mesure des métabolites dans chaque hémisphère du cerveau de rat sain.	Observation de corrélations in vivo : NAA, Ala, GABA, Glc, Glx, GSH, mIns, Lac,Pe, Tau, Thr

Année	Réf	But	Séquence	Paramètres	Temps Acquisition	Application	Observations
2002	[46]	Étude de la reproductibilité des mesures en LCOSY	LCOSY	1.5T TE = 30ms TR = 2000ms Pts = 128x1024 NA = 8 Intégration	34min	Étude de la reproductibilité in vitro et in vivo de la LCOSY :	L'intégration brute du volume des pic semble reproductible et les ratios mesurés ont une variabilité inférieure à 13% pour les métabolites en grande concentration (NAA, Cr, Ch, Glx, mIn) et <26% pour ceux en faible concentration (Asp,PE,Thr,Lac,GABA)
2003	[25]	Évaluation des séquences 2D LCOSY et JPRESS sur un imageur clinique	LCOSY/JPRESS	3T Pts = 64x1024 Fe =1250x1250 NA = 8 Intégration	34 min	Faisabilité LCOSY/JPRESS dans le cerveau humain.	Implémentation faisable. On observe les principaux métabolites cérébraux. La LCOSY permet une meilleure séparation des contributions des métabolites. Le ratio des différents volumes de métabolites a été calculé et semble meilleur en JPRESS.
2005	[47]	Optimisation d'une séquence JPRESS	JPRESS avec échantillonnage maximum de l'écho	3T TE = 31 à 229ms TR = 2500ms NA = 2 (?) Pts =128x2048 Fe =500x2000Hz ProFit Antenne surf/volumique	17 min	GABA in vitro Cerveau humain 27 patients	Augmentation de la sensibilité de la séquence pour des T2 longs. Correction des courants de Foucault de la séquence.

Tableau 1 : Principales études *in vivo* utilisant la spectroscopie 2D sur les vingt dernières années.

Ces différentes études montrent une tendance générale : l'utilisation de la SRM2D pour l'étude des métabolites cérébraux. Ces dernières années, les principales études portent sur l'utilisation clinique (sur l'humain) de la SRM2D. L'application pour l'étude sur petit animal débute principalement début des années 2000 et repose principalement sur l'utilisation de champs élevés ($>4.7T$) et de séquence localisées. L'utilisation de la SRM2D s'est opérée dans un premier temps par un transfert de méthode venant de la chimie, par l'utilisation de séquences localisées en surface.

.

5. SRM 2D J-résolue :

La spectroscopie 2D J-Résolue (Figure 15a) est basée sur une séquence écho de Hahn spectroscopique ($\frac{\pi}{2} - \frac{t_1}{2} - \pi - \frac{t_1}{2} - t_2$). Elle consiste en une incrémentation du temps d'écho de cette séquence. Elle permet d'avoir accès à travers la dimension indirecte à l'information sur les couplages scalaires des métabolites présent dans le spectre. Sa version localisée par des gradients est la séquence JPRESS[43] (J-resolved PRESS ou PRESS J-résolue) et a été l'une des premières séquences de SRM 2D localisée utilisées[48]. Elle se base sur un motif de séquence PRESS de SRM 1D. Des artefacts peuvent intervenir dans le spectre du fait de l'utilisation d'impulsion de refocalisation (π) : Dans les zones fréquentielles proches de l'eau (résiduelle), si la suppression du signal de l'eau n'est pas suffisante mais aussi le long de la dimension 1, il peut y avoir des artefacts dit de « t1-noise » correspondant dans le spectre à de longues trainées en dimension 1. Ces artefacts sont dus à un déphasage des signaux du fait d'une mauvaise refocalisation des spins. La première utilisation de la SRM J-résolue pour l'analyse des métabolites cérébraux a été faite *ex vivo* par Behar *et al* [42] sur un tissu cérébral excisé. Cette expérience a été réalisée sans utilisation de gradients, il s'agit d'une expérience avec localisation *in situ*. Du fait de cette localisation, la profondeur d'exploration dépendra des impulsions utilisées et du profil de sensibilité de l'antenne. Comparativement à la SRM 2D de corrélation, la SRM J-résolue a ensuite été beaucoup plus utilisée avec l'utilisation de gradient de sélection spatiale.

6. SRM 2D de corrélation :

La spectroscopie de corrélation (Figure 15b) se base sur le principe d'un transfert de polarisation magnétique entre deux spins couplés. Cela est obtenu par le schéma de séquence ($\frac{\pi}{2} - t_1 - \frac{\pi}{2} - t_2$). Contrairement à la JPRESS, les séquences dites de spectroscopie de corrélations ou COSY ont été moins explorées dans le cadre *in vivo*. Parmi ces séquences de corrélation, la LCOSY (Localized Correlation Spectroscopy ou Spectroscopie de corrélation localisée) est la plus utilisée dans les publications. D'un point de vue quantitatif, la séquence JPRESS permet d'utiliser les méthodes de quantification déjà développées et exposées plus haut pour la PRESS. Pour les séquences de corrélation, il n'existe cependant que des approches se basant sur des outils de SRM haute résolution (méthode d'intégration) et de SRM 1D (conversion du spectre de corrélation en une succession de spectre 1D pour une utilisation dans le LCModel)[49][50]. La spectroscopie de corrélation (COSY) permet cependant une observation de manière beaucoup plus directe des métabolites couplés et non couplés, GABA, Gln et Glu entre autres. Sa dérivée à base

de constante de temps (CTCOSY) permet en plus d'améliorer le RSB des taches de corrélations d'un facteur 2 en théorie [25]. Nous verrons dans le chapitre suivant les versions localisées des séquences de corrélation pour une application *in vivo* qui ont été développée durant cette thèse.

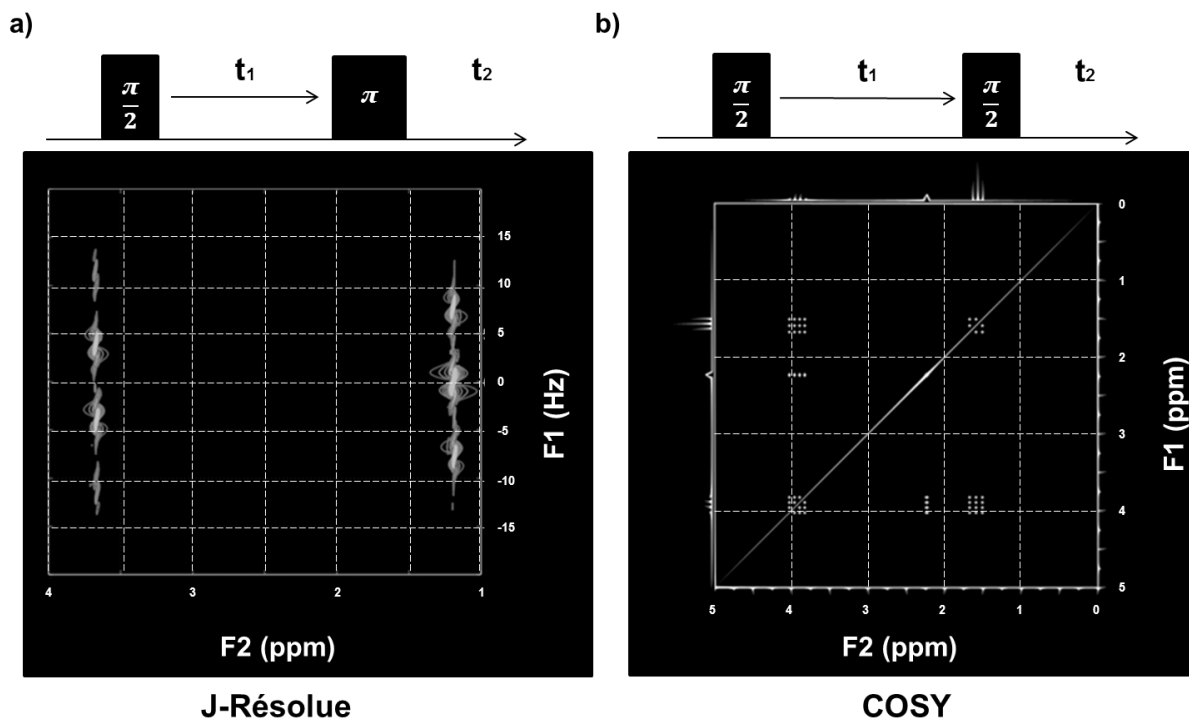


Figure 15 : Spectre haute résolution 2D d'une molécule de machin : a) Spectre J-résolue. B) Spectre de corrélation (COSY)

c) Molécule avec les différents groupements correspondant dans les spectres assignés.

7. Encodage de la dimension indirecte :

L'un des principaux inconvénients de la SRM 2D est son temps d'acquisition, augmentant avec le nombre de point de la dimension indirecte à acquérir. En clinique, ce temps d'acquisition peut devenir problématique. La principale méthode pour contrer ce long temps d'acquisition est de jouer sur la façon d'encoder la dimension indirecte : l'encodage *classique* consiste à acquérir de manière régulière selon une fréquence d'échantillonnage fixée les points de la dimension indirecte. De façon opposée à cet encodage, il existe l'encodage dit *irrégulier*, utilisé également pour accélérer l'acquisition en imagerie, consistant à choisir les points à échantillonner et à reconstruire le spectre [51]. Un exemple d'application de cette méthode est donné pour la L-COSY sur des lipides au chapitre 4. Il existe aussi la spectroscopie ultra-rapide, technique récente (2002) et développée en haute résolution [52] dont de récente version localisée sont disponibles [53]. La spectroscopie ultra-rapide permet d'acquérir en quelques secondes un spectre 2D en rendant dépendant spatialement l'évolution dans la dimension indirecte : l'encodage ne se fera alors plus par une évolution

temporelle mais par une évolution spatiale. Le voxel sera alors décomposé en un ensemble de plan présentant un t_1 différent et dont on peut acquérir le signal rapidement via des motifs d'acquisition issue de l'imagerie comme l'écho planar (EPI)[54]. Cependant, dans le cadre d'acquisition *in vivo*, la technique ultra rapide nécessite que le volume d'intérêt contienne une quantité suffisante de spins détectables (différence entre le nombre de protons orientés parallèlement et antiparallèlement à B_0) pour que, spatialement, chaque sous éléments de volume participant à l'encodage de la seconde dimension spectrale donne un signal sur bruit suffisant. L'utilisation de méthode telle l'hyperpolarisation nucléaire dynamique semble être une solution pour pallier ce problème (technique permettant d'augmenter le RSB d'un facteur 10^6), mais cette dernière méthode est difficile à mettre en place et nécessite encore beaucoup de développement pour une application *in vivo*.

Une façon simple de réduire le temps d'acquisition est de diminuer le nombre de points à acquérir en dimension indirecte en prenant soin d'évaluer l'espace (t_2 , t_1) à échantillonner dans le spectre via des simulations pondérées par la relaxation et le RSB atteignable, mais aussi en pratique en optimisant le placement, le shim et les différents réglages de séquence ; cela sera abordé au chapitre 3.

IV. Quantification:

Nous avons décrit la SRM du point de vue de l'acquisition et phénomènes physiques. Dans la suite nous abordons les principes de la quantification des spectres de SRM proton.

1. SRM 1D

La spectroscopie quantitative consiste en la mesure des concentrations des métabolites présents dans le spectre. Comme vu dans les paragraphes précédent, le signal des spins d'un métabolite provient de l'aimantation globale de ces derniers ayant basculée dans le plan transverse et prenant un mouvement de précession lors de l'acquisition. L'intensité du FID acquis sera proportionnelle au nombre de protons résonnants de la molécule. Une molécule ayant n protons équivalents résonnants aura, en théorie et en ignorant les phénomènes de relaxation et autres paramètres de pondération, une amplitude proportionnelle à n . Pour m molécules, ce signal aura donc une amplitude proportionnelle à $m \times n$. Dans le domaine fréquentiel cette concentration sera proportionnelle à l'aire du pic

Le processus dit de quantification consistera à retrouver et mesurer les contributions des différents composés donnant lieu à des pics de résonance dans le signal. Il existe de très nombreuses méthodes pour décomposer ce signal pouvant être classées en fonction de leur domaine d'étude- fréquentiel ou temporel-[9]

Le domaine fréquentiel est le plus simple à appréhender pour la quantification car il permet de visualiser directement les différents métabolites à quantifier. Une méthode simple pour la quantification consiste à intégrer les pics. Cette méthode a été très utilisée au début de la SRM *in vivo* car c'est une méthode héritée de la SRM haute résolution, e.g. en chimie analytique, où elle reste encore très utilisée. Pour des spectres de raies bien résolues, non enchevêtrées, cette méthode peut être considérée comme fiable. Malheureusement, en SRM1D, les différents phénomènes de relaxation, de ligne de base, d'inhomogénéités, de rapport signal à bruit faible font que cette méthode n'est pas fiable et ne soit plus – ou rarement -utilisée. De plus la méthode d'intégration est incapable de prendre en compte le phénomène d'enchevêtrement spectral et l'intégration des *pieds* des pics (Cette méthode peut sous-estimer les aires jusqu'à 40%[55]).

Le signal 2D à quantifier d'une séquence PRESS consiste dans le domaine temporel en une combinaison linéaire de plusieurs autres signaux et peut être écrit ;

$$FID(t) = x_{\widehat{\text{métabolite}}}(t) + x_{\widehat{\text{res. eau}}}(t) + x_{\widehat{\text{ligne de base}}}(t) + \sigma_{\text{bruit}}$$

Le signal $x_{\widehat{\text{métabolite}}}(t)$ correspond à la modélisation des différents FID des métabolites, c'est le signal d'intérêt à quantifier. Les autres signaux sont dus au résidu de la suppression d'eau,

à la présence de macromolécules et enfin au bruit de l'acquisition. Il existe différentes façon de traiter ce signal. La quantification se base principalement sur la minimisation d'une fonctionnelle. Cette minimisation peut s'effectuer selon le domaine de traitement du signal (temporel ou fréquentiel) et par l'utilisation d'un modèle paramétrique (estimation d'un nombre fini de paramètres décrivant le signal) ou semi-paramétrique (estimation d'une fonction décrivant le signal) et pouvant être linéaire. Ces principales méthodes de quantification *in vivo* en SRM 1D sont données dans le tableau suivant :

Tableau 2 ; Principaux algorithmes de quantification 1D

Méthode	Domaine de traitement	Approche	Référence
HSVD	t	Modélisation mathématique (par une somme de Lorentziennes)	[56][57]
VARPRO	t	Méthode de projection des variables (fonction modèle combinaison linéaire de fonction non-linéaire) : ajustement non linéaire sur les variables projetées.	[58]
AMARES	t	Minimisation non linéaire globale	[59]
LCModel	f	Semi-paramétrique (base+spline)	[60]
QUEST	t	Semi-paramétrique : base simulée+modèle physique	[13]
TARQUIN	$t + f$	Approche QUEST en t + ajustement des fréquences en f + lien entre paramètres du modèle	[61]

Le processus de quantification est inhérent à la qualité du spectre, il sera d'autant plus robuste que le spectre aura une qualité suffisante. La qualité d'un spectre peut être défini par ces critères [62] :

- RSB temporel (rapport entre l'amplitude du premier point du signal et l'écart-type des derniers points du signal relaxé) / fréquentiel (rapport entre amplitude du pic et moyenne de l'intensité du bruit de fond)
- Largeur à mi-hauteur (relaxation T2 des composés)
- Inhomogénéités
- Résolution spectrale
- Absence d'artefacts (effet de déplacement chimique, contamination macromoléculaire, refocalisation inexacte (*spurious echo*), décalage en fréquence de la porteuse).

2. SRM 2D

La SRM1D reste problématique pour l'étude de métabolites ayant une structure complexes et est entaché par un problème d'enchevêtrement spectral (chose très commune pour des champs précliniques <9.4T), ne permettant pas de discriminer les différentes résonances contribuant à un pic. L'utilisation de la spectroscopie à 2D permet de résoudre ces problèmes lors de l'acquisition. Cependant, l'existence de méthode de quantification n'est pas aussi prolifique qu'en SRM 1D. Le Tableau 3 référence les principales approches quantitative en SRM2D utilisées en clinique/préclinique, on peut voir qu'il n'existe qu'un algorithme spécifique aux séquences de spectroscopie de type J-résolue tel la JPRESS, nommé ProFit. ProFit est une approche paramétrique basée sur le LCModel (quantification 1D dans le domaine fréquentiel d'une combinaison linéaire de spectres de métabolites) et VARPRO (technique permettant de décomposer l'optimisation d'un problème non linéaire en un problème plus simple : une partie linéaire et non linéaire). Le signal $x(t_2, t_1)$ modélisé par ProFit consiste en une somme de contribution de chaque métabolite m dans le FID acquis. Pour chaque métabolite, l'algorithme consistera à évaluer la pondération nécessaire des signaux théoriques obtenus par simulation $x_m(\widehat{t_2}, t_1)$: des facteurs d'amortissement de type gaussien σ_g selon la dimension t_2 et lorentzien $\sigma_{e,m}$ selon t_1 et t_2 . Un décalage en fréquence en F_2 caractérisé par $\Delta_{2,m}$ et enfin une phase d'ordre 0 φ_0 permettant d'ajuster la phase du signal simulé. Le signal à optimiser aura comme expression :

$$x(\widehat{t_2}, t_1) = \sum_{m=1}^M x_m(\widehat{t_2}, t_1) \exp(i \cdot \Delta_{2,m} - \pi \sigma_{e,m} |t_1 + t_2| - \frac{(\sigma_g \pi t_2)^2}{2 \log(2)})$$

La procédure ProFit est basée sur trois étapes (Figure 16) :

- 1- Une étape d'initialisation linéaire qui va procéder à l'optimisation elle aussi en trois étape des métabolites ne possédant pas de couplage (i.e. singulets) : 1) seul l'amplitude et le décalage en fréquence est estimé, 2) les facteurs lorentzien et gaussien sont ajustés, 3) Tout les paramètres de ces métabolites sont ajustés.
- 2- Une étape d'optimisation non linéaire qui va ajuster pour tous les métabolites les paramètres d'amortissement et de décalage en fréquence
- 3- Un ajustement linéaire de la concentration de chaque métabolite

La procédure de quantification est achevée quand l'étape 2 est répétée trois fois

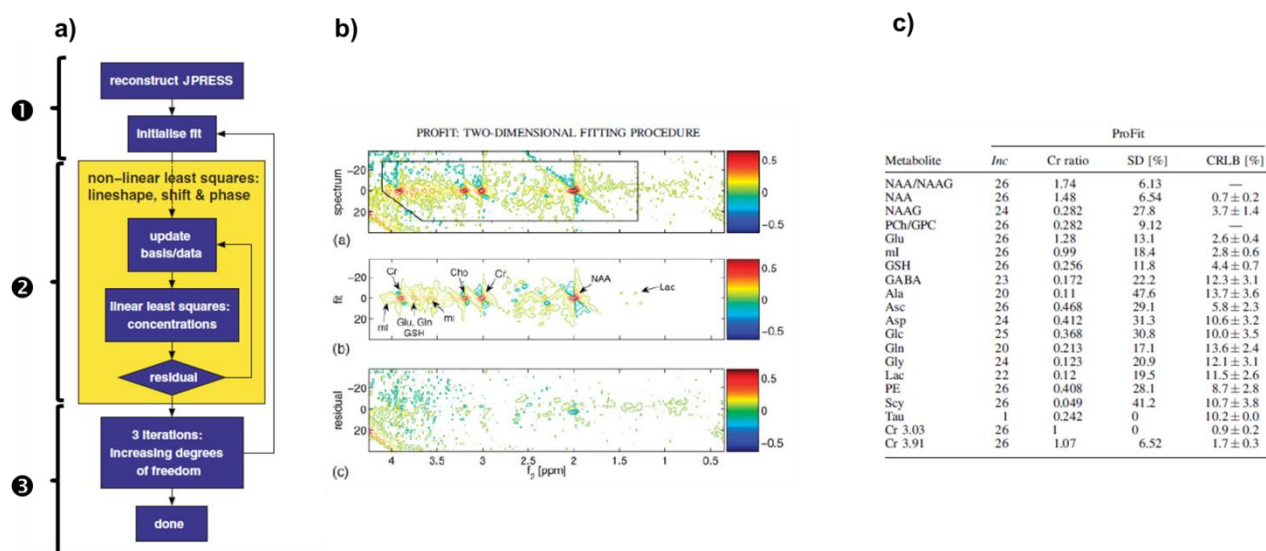


Figure 16 : a) procédure d'optimisation utilisée par profit. b) exemple de spectre acquis (haut), quantifié (milieu) et résidus (bas). c) Résultats de la quantification obtenus sur le cerveau sain pour une cohorte de 27 sujets sains à 3T.

Pour ce qui est de la spectroscopie 2D de corrélation, la quantification se base sur une méthode d'intégration des volumes des pics ou une modélisation purement mathématique du signal (méthode fondée sur la décomposition en valeurs singulière SVD). En pratique, l'approche par SVD est utilisée en SRM 1D pour le traitement du spectre afin d'éliminer, par filtrage des composantes issues de la décomposition, des pics indésirables comme le résidu d'eau.

Tableau 3 : Méthodes de quantification existantes pour la SRM 2D.

Séquence	Méthode	Domaine	Approche	Réf.
JPRESS/LCOSY	ProFit	t	Semi-paramétrique Avec connaissance apriori (base de métabolite simulée)	[47][63]
LCOSY	Intégration	f	Opérateur contourant les pics d'intérêt à intégrer dans le spectre	[64]
LCOSY/JPRESS	SVD	t	Modélisation mathématique	[65]
LCOSY/LCTCOSY/ JPRESS	2D-QUEST (notre approche)	t	Estimation dans son ensemble du signal du spectre avec connaissance <i>apriori forte</i> + modèle physique + contraintes paramétriques	Chap. 3 de cette thèse

3. Estimation de l'erreur dans un processus de quantification

Le processus de quantification en SRM *in vivo* désigne un processus d'estimation paramétrique (ou semi paramétrique) fondée sur une fonction modèle comme présentée dans le paragraphe précédent. Cette estimation est dépendante de sources d'incertitude (en premier lieu du bruit de mesure) et du modèle utilisé et est donc entaché d'erreur d'estimation. Dans une mesure physique, on estime cette erreur en répétant cette mesure et en donnant la valeur moyenne de la *mesure* \pm *écart-type*.

Les acquisitions en SRM sont longues et ont une visée *in vivo*, il est donc difficile de réaliser une telle répétition de la mesure, de plus les processus biologiques observés sont eux-mêmes le résultat de réactions biochimiques moyennes. Alors comment interpréter les résultats de quantification sans connaître leur précision *i.e. comment avoir une idée de l'erreur de mesure ?*

Proposé par Cavassila *et al* [66] pour la quantification en SRM, l'inégalité dite de **Cramér-Rao** donne la borne inférieure théorique de l'écart type d'un estimateur pour un modèle donné et permet d'avoir *une idée* de l'erreur d'estimation pour un paramètre estimé via une procédure de quantification. Lorsque l'écart-type d'un estimateur atteint la borne de Cramer Rao, ce dernier est dit efficace. Ces bornes correspondent en quelque sorte à l'erreur faite sur une mesure répétée une multitude de fois et dont la seule source d'erreur proviendrait du bruit de mesure.

L'usage abusif des bornes de Cramér Rao (CRBs) est celui qui consiste à valider une mesure sous prétexte d'avoir pour celle-ci de faibles bornes de Cramér Rao. Pour pouvoir valider cette assertion, il faut vérifier que le modèle utilisé est juste, et en premier lieu si le processus d'estimation a bien convergé. En effet, les CRBs sont calculées pour des paramètres estimés. Si le modèle et paramètres utilisés ne correspondent pas à l'acquisition (*i.e.* si l'ajustement paramétrique est défaillant), ses bornes ne correspondent à rien. Il faut ainsi prendre en compte ces comportements pour utiliser les CRBs sans risque, et pouvoir donner un sens physique à nos mesures, au modèle utilisé et nos résultats. Nous verrons dans le chapitre 2 le calcul de ces CRBs dans le cadre de modèles paramétriques pour la SRM 2D et en chapitre 3 leurs applications pour un calcul d'erreur théoriques pour trois séquences de SRM 2D.

4. Diminution de l'erreur en SRM *in vivo*

En étudiant les CRBs sur différents cas, on peut voir et c'est attendu, que la quantification devient précise lorsque l'acquisition est de '*bonne qualité*' et dont le signal peut être décrit de manière précise. En SRM 1D, les séquences *classiques* telles la PRESS ou la STEAM ont largement été étudiées et employées. Les CRBs ont été calculées pour ces séquences dans des applications cliniques, précliniques et *in vitro*. Le Tableau 4 illustre les bornes typiquement obtenues pour les métabolites couplés et les singulets pour des études *in vivo*.

Application	Méthode	Résultat	CRBs	Réf.
Suivi du développement du profil neurochimique du cerveau de rat.	STEAM, TE =2ms, TR =5000ms LCModel 9.4T 114 spectres 18 métabolites quantifiés 20 rats (?)	Concentrations estimées en accord avec les valeurs de la littérature obtenues par chromatographie.	Principaux métabolites quantifiés avec CRB<20%. Singulets <5%.	[34][32]
Estimation du profil neurochimique dans différente zone du cerveau de souris	STEAM, TE = 2ms, TR =5000ms LCModel 9.4T 27 spectres 16 métabolites quantifiés Méthode de shim FASTMAP associé à des gradients de <i>shim</i> du <i>second ordre modifiés</i> 10 souris (?)	Résidu d'eau dans les spectres <14Hz. Spectres avec un RSB>10 pour des voxel de 10 μ L.	CRB Singulets <5% Glucose &GSH <25% Ala, Asp, NAAG,PE >20%	[35][33]
Détection de l'ascorbate and glutathione dans le cerveau humain. Concentration de ces composés de l'ordre du nM.	Double editing MEGA-PRESS, TE =112 ms, TR= 4500 ms LCModel 4T 10 métabolites quantifiés 4 patients	Mesure de l'Asc et du GSH. Efficacité de cette séquence pour mesurer ces métabolites. Mesure des couplages J et du déplacement chimique et comparaison avec un spectre haute résolution.	Asc < 9.75% GSH < 6.5%	[36][34]
Établissement de l'évolution du GABA avec l'âge dans les régions du cerveau humain	MEGA PRESS, TE =68ms, TR= 2000ms. AMARES 3T 100 patients	Diminution du signal du GABA,MM et Homocarnosine (GABA+) avec l'âge.	GABA+ <5.2%	[37][35]
Profil neurochimique du cerveau de rat à très haut champs (16.4T).	STEAM TE = 1.7ms, TR = 1500ms, LCModel 16,4T 20 métabolites quantifiés 12 rats	Quantification d'un spectre <i>in vivo</i> à 16.4T. Détection d'Acétate dans le cerveau. Gly quantifié de façon fiable. Contribution Macromolécules paramétrée.	Gly <17% Singulets <5% PE<7%	[38][36]

Tableau 4 : Principales études utilisant les bornes de Cramer Rao comme indicateur de l'erreur de quantification.

À travers ces études, on voit que les CRBs sont élevées pour les métabolites couplés alors que pour les singulets, les CRBs sont faibles. De plus on voit que plus le champ B_0 augmente et plus les CRBs diminuent : les CRBs sont liées à la dispersion spectrale, puisque plus il y a dispersion spectrale plus aisée est l'estimation. Elles permettent donc indirectement de donner une information sur la qualité du spectre et l'enchevêtrement des composantes, i.e. plus les composantes à identifier ont une importante résolution spectrale comme les singulets et les métabolites couplés ayant des résonances éloignées en fréquence comme le Lac, moins les CRBs seront élevées. En plus de l'augmentation du champ, c'est la pondération du signal qui peut permettre de mieux discriminer les résonances, cette pondération peut être obtenue en jouant sur les temps d'écho pour pondérer soit en relaxation T_2 ou alors en modulation du couplage scalaire. Il convient donc de choisir en fonction du métabolite à étudier la séquence et le temps d'écho adéquate. Bolliger *et al.* [67] montre qu'on peut utiliser le critère des CRBs pour choisir les paramètres de séquences. Cela est notamment vrai pour des études utilisant des spectres à plusieurs temps d'écho. Le gain des CRBs obtenus par une telle optimisation sur des métabolites couplés est d'environ 20% dans la plupart des cas. Dans cet article, l'accent est mis sur la spectroscopie J-résolue (JPRESS) qui peut être vue comme une séquence PRESS échantillonnée à des temps d'écho régulier et dont l'encodage selon la dimension indirecte permet d'apporter une discrimination supplémentaire. De plus l'utilisation d'une acquisition directement après la séquence permet non pas d'acquérir la moitié de l'écho mais un maximum de signal de l'écho.

V. Approche quantique de la SRM :

Nous avons vu qu'il existe des processus de quantification utilisant une connaissance *a priori* utilisée en SRM tel QUEST [13] en 1D et ProFit en 2D [68] pour la JPRESS. Cette connaissance est obtenue à partir d'une description quantique du comportement des spins des métabolites soumis à la séquence. Nous avons aussi vu qu'une estimation de l'erreur la plus couramment utilisée et accessible en SRM est l'utilisation des bornes CRBs. La théorie de CRBs n'est valide que pour une fonction modèle qui décrit le plus fidèlement le signal acquis. L'apport d'une connaissance *a priori* permet de minimiser le nombre de paramètres et leur interdépendance et donc diminuer les CRBs [66]. Comme pour le cas de la SRM 1D, nous verrons qu'une description de ce signal peut s'obtenir à partir du formalisme des opérateurs produits [69]. Nous verrons que cette approche descriptive du signal sera utilisée par la suite dans l'algorithme de quantification mis au point durant cette thèse et présenté dans le chapitre 2.

1. Opérateurs quantiques de spin

La description classique (modèle vectoriel/équation de Bloch) reste valable tant que l'aimantation peut être assimilée à un vecteur comme en imagerie avec les spins du proton de l'eau. Dans la plupart des cas en spectroscopie, une approche quantique est nécessaire, le modèle vectoriel ne s'appliquant pas pour des spins couplés [70].

La mécanique quantique ne va pas directement manipuler l'aimantation observable mais plutôt l'état du système de spin qu'il soit observable ou non au moment de la détection. Le spin d'un noyau est la somme vectorielle des moments magnétique nucléaire des particules composant ce dernier. Ces moments sont quantifiés, ils ne peuvent prendre que certaines valeurs. On peut donc décrire un noyau en fonction de ces valeurs quantifiées [71].

En mécanique quantique, l'ensemble des états possibles d'un système physique forme un espace vectoriel dit de Hilbert. Pour un spin $\frac{1}{2}$ non couplé (tel le proton), les états de base indépendants du temps de cet espace sont $|\alpha\rangle$ et $|\beta\rangle$. On pourra décrire la fonction d'état $|\psi\rangle$ de ce spin en fonction des états de base :

$$|\psi\rangle_t = C_{\alpha(t)}|\alpha\rangle + C_{\beta(t)}|\beta\rangle$$

A tout observable (énergie, position, moment) est associé un opérateur, agissant sur une fonction pour en donner une nouvelle, ou dans le cas d'une fonction propre, la fonction d'origine multipliée par une valeur propre. À partir du vecteur d'état, on peut définir

l'opérateur densité d'état qui permet d'accéder à l'ensemble des états quantiques observable du système considéré (mélange statistique d'états) :

$$\hat{\sigma} = |\psi\rangle\langle\psi|$$

La matrice des densités associée à cet opérateur est : $\sigma_{ij} = \overline{C_i C_j^*}$

Avec i et j désignant un état d'énergie disponible pour le système de spins. Les termes diagonaux de cette matrice représentent les populations des différents niveaux d'énergie du système. À l'équilibre les termes non diagonaux ($i \neq j$) ont une valeur nulle. Ces termes peuvent être non nuls sous l'effet d'une perturbation extérieure au système (telle une onde radio fréquence) : on aura alors une **cohérence** d'état entre $|i\rangle$ et $|j\rangle$. Le spin nucléaire est caractérisé par un moment angulaire associé. Ses trois composantes le long de x, y et z peuvent être représentées par les opérateurs I_x , I_y , I_z . Le moment de spin $\frac{1}{2}$ d'une particule peut-être décrit dans la base sous la forme d'opérateur :

$$\hat{I} = \hat{I}_x + \hat{I}_y + \hat{I}_z$$

2. Description quantique d'une séquence de spectroscopie

Un spin est un système quantique dont les niveaux d'énergie sont régis par l'équation de Schrödinger. Nous nous intéresserons pour décrire l'influence d'une séquence d'impulsion plus particulièrement à l'évolution dynamique d'un groupe de spins. Cette dynamique est décrite par l'équation de Liouville Von Neumann déduit de l'équation de Schrödinger du second ordre par principe de correspondance :

$$\frac{\partial}{\partial t} \hat{\rho} = -\frac{i}{\hbar} [\hat{H}, \hat{\rho}]$$

Elle fait intervenir pour chaque spin une densité d'état $\rho(t)$ correspondant à l'ensemble possible des états quantiques et l'Hamiltonien $H(t)$ du système de spin considéré. L'Hamiltonien d'un système est l'opérateur *énergie* du système. Il regroupe en ses valeurs propres les niveaux d'énergie du système. En SRM, ce sont les transitions entre ces niveaux qui forment les pics dans le spectre. Elles peuvent être modifiées dans le temps par de l'énergie déposée via des impulsions : l'Hamiltonien total de ce système altéré sera alors la somme des Hamiltonien, du système de spin et des impulsions. En RMN le signal détecté est l'aimantation de l'échantillon dans le plan normal au champ B_0 (plan xy dans le référentiel tournant). Cette aimantation résulte de l'addition des aimantations induites par les spins nucléaires $1/2$ de chaque molécule. Toutes les molécules de l'échantillon étant, en principe, dans le même état quantique, une telle mesure d'ensemble équivaut à réaliser une série de mesures projectives (projection sur les états propres de l'observable mesurée)

identiques sur un ensemble de systèmes dans le même état. Le résultat de la mesure d'ensemble est donc proportionnel à la valeur moyenne (au sens quantique du terme) des observables de spin d'une seule molécule. Une description complète du signal des spins est obtenue en calculant la matrice des densités d'état $\rho(t)$ du système de spin. Il existe différents formalismes pour calculer cette dernière matrice [72]. Cependant son calcul est conséquent et difficile. Il existe un formalisme basé sur les matrices densités d'état beaucoup plus simple mais utilisable dans le cas de système de spin faiblement couplés ayant peu de spins couplés entre eux : le formalisme des opérateurs produits (Sorensen *et al* [69]), qui simplifie le formalisme des matrices densité en développant la matrice sous forme de combinaison linéaire dans une base orthogonale (opérateur produit). Ce formalisme simplifié permet d'analyser et de comprendre les effets des séquences d'impulsions et d'optimiser les paramètres expérimentaux. Il se base sur la représentation de Schrödinger (état d'un système évoluant dans le temps) pour évaluer la projection de $\rho(t)$. L'effet des impulsions radiofréquence et des périodes de précession sur le système de spin est décrit par ce formalisme. Ces effets sont caractérisés par des Hamiltoniens d'action: en SRM *in vivo* ce sont principalement les Hamiltonien dit Zeeman pour le déplacement chimique et de l'Hamiltonien de couplage scalaire que l'on utilise pour décrire les effets dans notre séquence.

La Figure 17 présente les étapes de calcul nécessaire du formalisme des opérateurs produits pour un système de deux spins I et S (représenté par \hat{I} et \hat{S} dans la base des opérateurs) soumis à un schéma d'impulsion COSY classique.

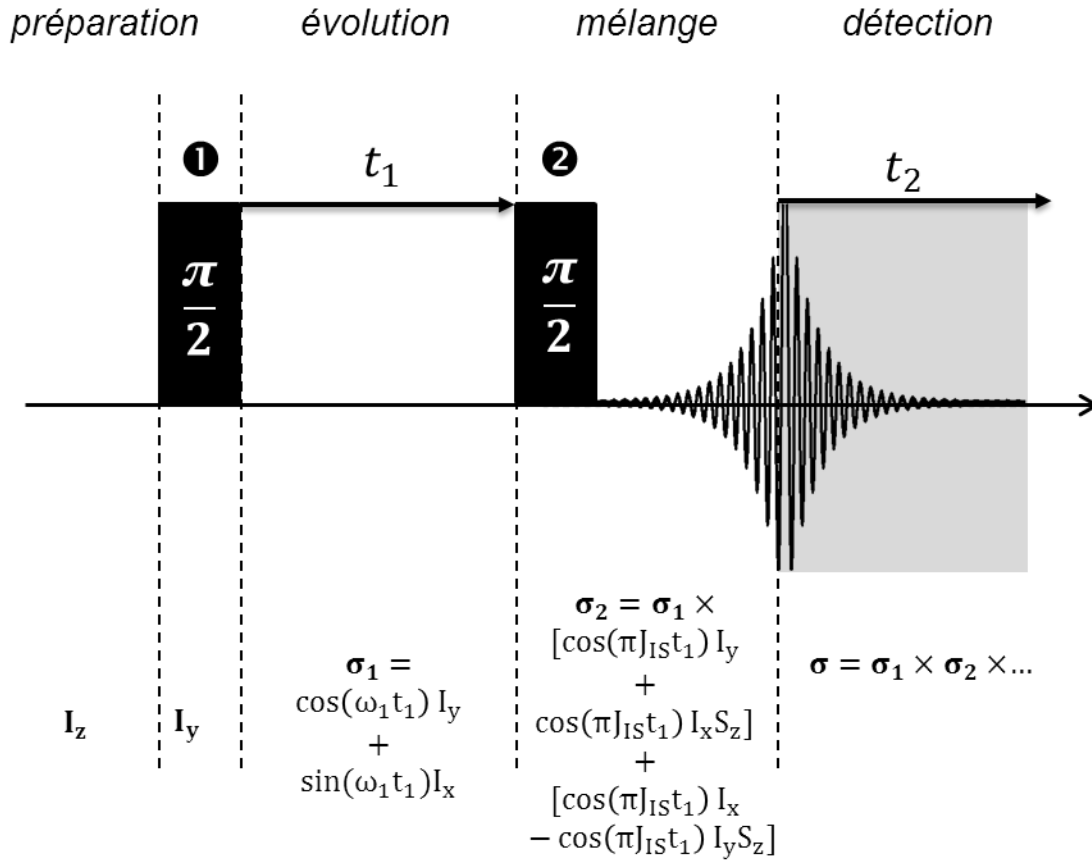


Figure 17 : Exemple du formalisme des opérateurs produits pour un système de deux spins évoluant selon une séquence d'impulsion de type COSY. Pendant la période de préparation, on bascule les spins dans le plan transverse. Le groupement va ensuite évoluer durant un temps t_1 selon deux Hamiltonien d'action : précession libre et effet Zeeman (déplacement chimique). La période de mélange va permettre aux spins d'échanger leur cohérence par l'entremise du phénomène de couplage scalaire. Lors de la période de détection, on détectera les termes en $I_x, I_y, I_z S_x, I_z S_y, I_x S_z, I_y S_z$ (cohérence en phase et antiphase). L'écho obtenu sera modulé par les cohérences créées et sera lui-même modulé par une évolution en Hamiltonien Zeeman et de couplage scalaire.

Le formalisme des opérateurs produit se place dans l'hypothèse d'une résolution de l'Hamiltonien par perturbation dans le cas $\left(\frac{J_{AX}}{\nu_A - \nu_B}\right)^2 \ll 1$ (approximation des couplages faibles), c'est-à-dire pour un écart en déplacement chimique prépondérant par rapport à l'effet de couplage scalaire. Le cas inverse est rarement observé in vivo mais apparaît pour les systèmes de spin fortement couplés comme ceux du Glu, Gln, Glx à haut champs [48]. Le résultat du calcul pour une séquence COSY peut être trouvé dans [73]. Le calcul du produit des opérateurs produit pour les séquences 2D développées durant cette thèse (LCOSY & LCTCOSY) en ne considérant que le schéma d'impulsion (90-180-90) est présenté en chapitre 2. Notons qu'il existe des solutions logicielles de calcul formel permettant d'arriver au même résultat comme POMA [74] ou mathNMR [75].

En appliquant le formalisme pour plusieurs spins, différents termes apparaissent. Ces termes correspondent à un échange de polarisation entre spins couplés par l'intermédiaire du couplage scalaire. Cet échange va créer *une cohérence* entre la polarisation des spins et en fonction du nombre de spins impliqué, elles seront simples ou multiples. Les cohérences peuvent être suivies le long de la séquence en fonction des impulsions à travers un *chemin de cohérence*. Ce chemin peut aussi être modifié ou privilégié pour une valeur d'ordre de cohérence en utilisant des gradients ou un cyclage de phase adapté. Nous verrons dans le chapitre 2 la prise en compte de ce chemin de cohérence dans le développement des séquences.

Le calcul analytique par ce formalisme permet de comprendre les effets d'une séquence d'impulsion et d'obtenir de façon analytique le signal. Cependant, il se révèle complexe à mettre en œuvre pour le calcul de système ayant plus de trois spins et est inexacte pour des valeurs de couplage à la limite de l'approximation de faible couplage.

3. Simulation quantique utilisée comme connaissance *a priori* dans le processus de quantification

Le calcul précédent utilisait une approche analytique à l'aide du formalisme des opérateurs produits. Néanmoins pour les systèmes de spins plus complexes, cette approche est longue et nécessite de prendre un nombre de termes important (jusqu'à 64 termes pour les multiplets du NAA et jusqu'à 4096 pour un système de 6 spins...). Il existe des logiciels de simulation hérités du domaine de la RMN haute résolution permettant de simuler numériquement l'effet des séquences utilisées sur les systèmes de spins étudiés. Leur utilisation est largement employée dans la littérature et exploitée dans les logiciels de quantification. L'un des principaux logiciels utilisés est GAMMA (General Approach To Magnetic Resonance Mathematical Analysis) [76]. Ce dernier est un pionnier des logiciels de simulation, mais du fait de son âge, la communauté autour de ce dernier n'est plus aussi active. Il existe, à ce jour de nombreuses solutions logicielles, permettant de simuler tout aussi efficacement les systèmes de spins. Le Tableau 5 résume ces solutions et synthétise les avantages et inconvénients relevés.

Tableau 5 : Principaux logiciels utilisés pour la simulation des spectres RMN

Réf	Simulation	Langage/Code	Utilisation/Suivi	Temps de simulation	
				Singulet	Multiplet
[76]	GAMMA	C++	HR – Fit	++	+++++
[74]	POMA	Mathematica 6	Analytique	+++	+++
[77]	SIMPSON	MATLAB	HR (solide)	++	++++
[78]	SPINDYNAMICA	Mathematica 6	HR	+++	+++
[79]	SPINEVOLUTION	C++	HR	++	++
[14]	SPINACH	MATLAB	HR/Contrôle optimal des spins	+	++

Parmi les solutions de simulation existantes, une alternative récente à GAMMA a été retenue pour obtenir la base de métabolites simulés dans notre processus de quantification: SPINACH. Son utilisation sous MATLAB permet une intégration plus poussée de la simulation dans la procédure de quantification elle aussi écrite en MATLAB et de simuler de façon simple des effets spécifiques à nos séquences comme le choix du chemin de transfert de cohérence ou l'effet d'impulsion sélective en fréquence (cf. Chapitre 2). Ces simulations sont basées sur la résolution numérique de l'équation de Liouville Von Neumann. Plus le nombre de spins impliqués dans la résolution est grand et plus les dimensions des matrices associées sont grandes (évolution de taille exponentielle...). Les principaux outils de simulation se concentrent principalement sur l'optimisation du calcul numérique (parallélisation, factorisation des termes symétriques, simplification analytique, etc..) et se limitent à la résolution précise de 5 à 10 spins. SPINACH quant à lui est un outil complet proposant une réécriture des matrices d'état de chaque spin, en effet il apparait que la majorité des états décrits dans des systèmes de spins complexes ne sont pas utiles dans une simulation RMN : ils peuvent être enlevés de façon sûre sans affecter la précision de la simulation [80]. Cette façon de *compresser* les matrices densité d'état permet d'accélérer les simulations RMN, l'échelle de complexité des calculs (taille des vecteurs, nombres d'opérations) s'accroissant de façon polynomiale avec la taille du système de spin à simuler et non plus de façon exponentielle comme dans les autres solutions.

VI. Conclusion

À travers ce premier chapitre, nous avons pu poser les différents contours et contraintes du domaine de la spectroscopie RMN *in vivo*, depuis la physique de la RMN sous-jacente à l'analyse des données. Du fait des conditions *in vivo* ou l'utilisation de champs relativement bas (1.5/3T) et moyen (4.7/7 T), la spectroscopie 1D sera limitée par sa résolution spectrale.

Il existe différentes techniques pour dépasser cette limitation, comme l'édition de spectre, cependant elle demande une augmentation du temps d'acquisition et peut demander une accumulation importante des signaux. Dans ce cas, l'utilisation du temps d'acquisition n'est pas efficace puisqu'il est passé à acquérir un métabolite cible en éliminant d'autres contributions qui pourraient être d'intérêt.

La spectroscopie RMN 2D offre une solution, largement utilisée actuellement en chimie analytique, permettant d'accroître la résolution spectrale en déroulant l'information spectrale selon deux dimensions. Il existe deux principaux types de séquences homonucléaires donnant une information différente : les séquences J-Résolue donnant une information sur les constantes de couplages scalaires et les séquences de corrélation *dit* COSY indiquant la connectivité entre groupement résonants. Ces vingt dernières années ont vu apparaître des travaux de recherche adaptant ses séquences pour des applications *in vivo* en introduisant un schéma de localisation. Les séquences ainsi obtenues sont la JPRESS et la LCOSY et sont les principales séquences utilisées pour des acquisitions précliniques et cliniques.

Plusieurs études ont porté sur les applications *in vivo* de la JPRESS et plus récemment de la LCOSY. La quantification est une étape importante pour l'exploitation des données de spectroscopie 2D *in vivo* puisqu'elle doit permettre de mesurer objectivement (opérateur indépendant), automatiquement et de façon la plus robuste possible les contributions de composés biochimiques. Pour la JPRESS, une méthode basée sur l'approche LCModel utilisé en 1D : ProFit a été proposée. Cependant, il n'existe pas de méthode de quantification par estimation paramétrique pour les séquences de types LCOSY.

Le fort potentiel de la LCOSY du point de vue quantitatif a longtemps été évoqué par les différents auteurs [25][63][46][81]. Actuellement, les méthodes de quantification en LCOSY sont les méthodes d'intégration adaptée aux signaux issues de la SRM haute résolution [82]

Nous nous sommes intéressés, dans cette thèse au développement d'une méthode dédiée aux spécificités d'une application *in vivo* se basant sur une estimation paramétrique du signal

temporel 2D et en s'appuyant sur une base de connaissance a priori de signaux simulés de systèmes de spins.

Chapitre 2 :

Développements de séquences et d'outils dédiés à la spectroscopie 2D localisée

Introduction

Nous avons vu dans le chapitre 1 les fondements et l'intérêt de la spectroscopie bidimensionnelle pour les applications in vivo. La spectroscopie de corrélation a été utilisée pour détecter la présence de métabolites en situation in vivo et sa reproductibilité inter-patient a été étudiée à travers la mesure de rapports de volume de différentes taches de corrélation des métabolites couplés montrant très peu de variation [46]. Ces volumes ont été mesurés à l'aide d'une méthode d'intégration héritée de la spectroscopie haute résolution. La pertinence de cette méthode dans le cas in vivo peut être questionnée du fait de conditions extrêmement peu favorables (inhomogénéités de champs, relaxation, résolution spectrale, milieu non homogène) et de la grande variabilité des données in vivo. Cependant cette reproductibilité semble se vérifier en utilisant une méthode de quantification par estimation paramétrique (Profit) [63].

Ce chapitre porte sur les travaux réalisés sur la spectroscopie 2D de corrélation pour une application préclinique in vivo et succèdent aux travaux de thèse de Tangi Roussel sur le développement de la JPRESS quantitative [22]. Nous verrons, dans une première partie, la séquence de spectroscopie implantée à partir d'une séquence PRESS : la LCOSY [81]. Une seconde séquence variante de la LCOSY a été développée : la LCTCOSY [12]. La seconde partie de ce chapitre repose sur le traitement des signaux de spectroscopie 2D de corrélation obtenue. Nous décrivons la méthode de quantification proposée et notamment l'obtention de la base de métabolite simulée via la suite de simulation SPINACH.

I. Développement de séquence de spectroscopie de corrélation localisée

Les séquences décrites dans le cadre de cette thèse ont été développés sur le système d'IRM préclinique *Bruker Biospec AVANCE 4,7 T* du laboratoire. Elles se basent principalement sur les travaux de *Ryner et al* [83] et *Braakman et al* [81] et prend appui sur le schéma de localisation PRESS. Deux implémentations de cette séquence ont été réalisées : une version avec une incrémentation continue de la dimension t1 et une autre permettant un échantillonnage irrégulier. À partir de cette séquence, une variante utilisant une technique à constante de temps a été réalisée : la L-CTCOSY[12].

1. L-COSY

La séquence L-COSY développée se base sur le schéma de localisation présenté (Figure 18). Ce schéma utilise trois impulsions sélectives en fréquence : ces impulsions sont rendues sélectives spatialement par l'application de gradients de sélection de coupe. Les impulsions dans un schéma COSY standard sont deux impulsions 90°. Ici, une troisième impulsion de 180° est placée entre les 90° pour permettre l'utilisation du schéma de localisation.

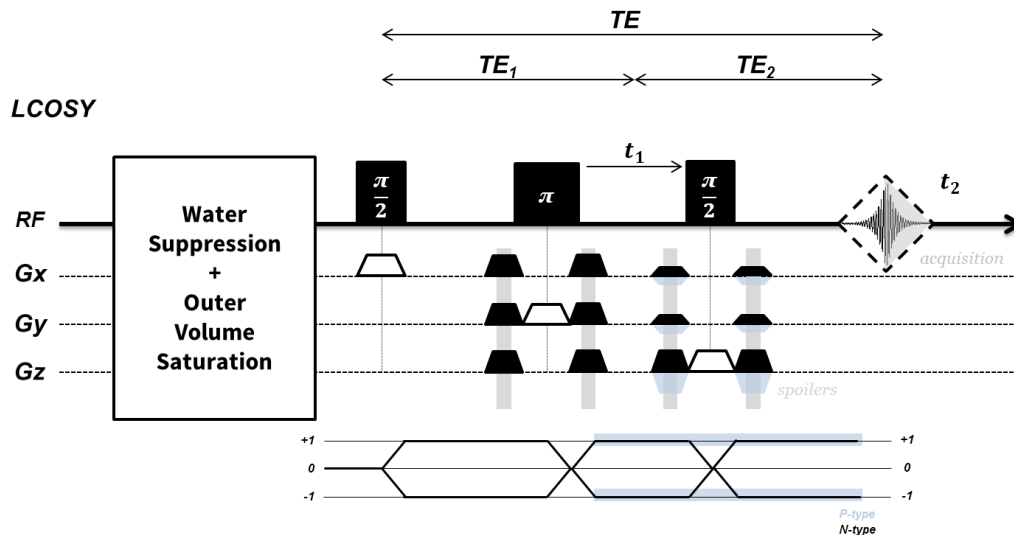


Figure 18 : Chronogramme de la séquence L-COSY développée. L'écho se forme au temps $TE_1 + TE_2 = TE$ décrit en haut de la figure et son acquisition s'effectue durant un temps t_2 (en rouge) donnant au spectre 2D sa dimension directe. Le temps t_1 entre l'impulsion de refocalisation (π) et d'excitation ($\frac{\pi}{2}$) est incrémenté n_1 fois et donnera sa dimension indirecte au spectre 2D. Les techniques de suppression d'eau et de saturation du volume extérieur sont des modules pré-séquence pouvant être désactivés. Le chemin de cohérence de la séquence est représenté en bas de la figure et peut être sélectionné par les gradients de dispersion avant la dernière impulsion représenté en bleu pour avoir un anti écho (chemin de cohérence : $p=+1$) et en noir pour un écho ($p=-1$).

a) Caractéristiques de la séquence

Un spectre COSY est caractérisé par des taches d'autocorrélation et des taches de corrélation croisée obtenues par un transfert de polarisation (cohérence) entre les spins de groupement chimique possédant un couplage scalaire.

Pendant la séquence plusieurs succession d'ordre de cohérence, appelés *chemin de cohérence* sont possibles et au moment de l'acquisition un ordre de cohérence (p) sera sélectionné, de façon notamment à éliminer des signaux indésirables. La sélection de ce chemin de cohérence, s'opère selon les impulsions utilisées, ainsi que par l'usage de gradients de champs magnétiques [84] ou par le cyclage de la phase du récepteur pendant NA accumulation du FID).

Pour détecter ces taches de corrélation croisée, il est important de choisir le chemin de cohérence permettant de choisir un ordre de cohérence observable. En fonction de ce dernier se formera un *écho* ($p=-1$) ou un *anti-écho* ($p=1$) de transfert de cohérence, détecté à la fin de la séquence.

En fonction du type d'écho de cohérence, on aura un modèle de relaxation du signal différent. Dans le cadre de cette thèse, on se placera dans le cas de la formation d'un écho de transfert de cohérence obtenu grâce à la sélection du chemin de cohérence par gradient.

b) Implémentation

La séquence implantée dans le cadre de cette thèse se base sur la séquence PRESS disponible sous l'environnement *Bruker Paravision 5.0*. Les changements apportés ont principalement porté sur le remplacement de la dernière impulsion de la PRESS par une impulsion d'excitation. Le motif de localisation PRESS a été modifié pour permettre la sélection d'un ordre de cohérence. La formation de l'écho (N-type) se forme à un temps $TE = TE1 + TE2$ [81]. D'autres fonctionnalités ont été ajoutées comme la possibilité d'ajouter un temps initial au départ de l'incrément, permettant d'avoir une séquence de type SUPER-COSY [85][86]. L'implémentation du délai incrémental a été réalisée en utilisant les fonctionnalités de spectroscopie haute résolution de Topspin 2.1 héritées dans Paravision permettant d'avoir une incrément du délai *en continu* selon une fréquence d'échantillonnage donnée par l'utilisateur pendant $n1$ point définis. Une variante de cette implémentation a été réalisée en utilisant des listes de délais, permettant de choisir une plage temporelle de $t1$ à acquérir et donc d'obtenir un échantillonnage irrégulier.

Pour que l'effet des gradients soit efficace, il est nécessaire que les gradients de part et d'autre des différentes impulsions de la séquence soient équilibrés. Un déséquilibre fera apparaître des distorsions à la base des pics mais aussi des artefacts. Le 'timing' de la séquence a été vérifié en branchant le signal de déclenchement du système de gradient à un oscilloscope (Figure 19) et en répétant la séquence plusieurs fois sans activer les différents modules pré-séquence (OVS, suppression d'eau). De cette façon, l'incrémentation des délais et les symétries des gradients associés aux impulsions ont pu être vérifiées.

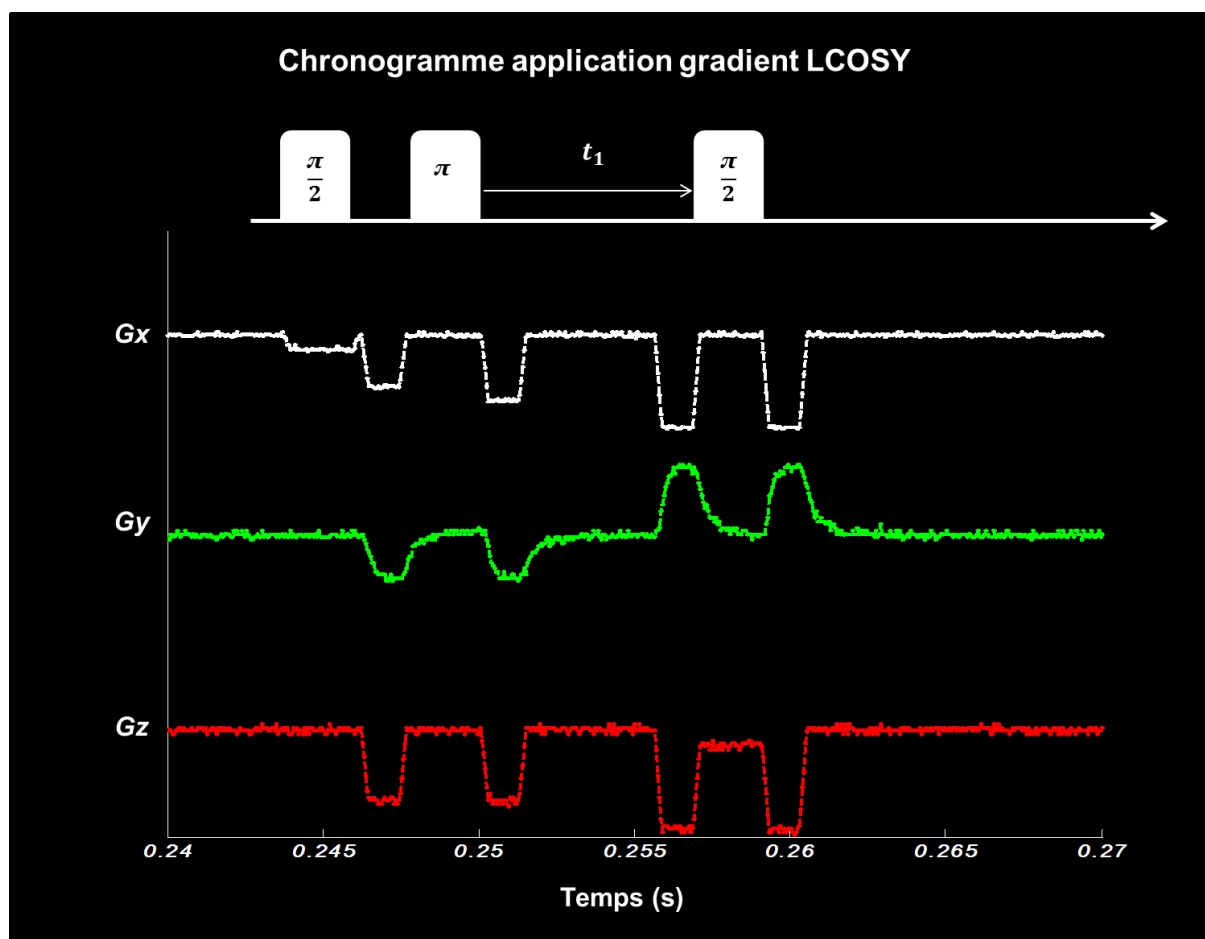


Figure 19 : Chronogramme de la L-COSY mesuré via un oscilloscope. Seuls les gradients sont représentés.

c) Temps d'écho et efficacité du schéma de localisation

Le temps d'écho TE de la séquence dépendra des paramètres TE1 et TE2 (Figure 18). Plus le temps d'écho sera court, moins le signal acquis sera pondéré par la relaxation transversale T2. Ces effets de pondération peuvent être importants notamment pour des T2 courts, et avoir accès à un TE le plus court possible est donc généralement recherché. Ce dernier dépend des durées de montée, de stabilisation et de descente des gradients. En pratique, les gradients et les impulsions n'ont pas de profil *rectangulaire* comme en théorie si

bien qu'un voxel prescrit cubique à acquérir correspondra plutôt à une sphère. Ces imperfections vont affecter la localisation de la séquence via des pertes et des contaminations du signal acquis (Figure 20).

Le choix d'impulsion de type Hermite a été fait pour les séquences LCOSY, LCTCOSY et JPRESS, car représentant un bon compromis en terme de temps d'application et d'efficacité de l'impulsion. Une bande passante de 4000 Hz pour les impulsions 90° et de 2000 Hz pour celle de 180° ont été choisies afin d'éviter tout problème d'interférence spatiale entre la bande passante des impulsions et le déplacement chimique causant un effet d'artefact de déplacement chimique. Comme on peut le voir sur la Figure 21, lors de l'application d'une impulsion, si cette dernière n'a pas une bande passante suffisante, son effet sur les spins ciblé ne sera pas effectif : pour des impulsions sélectives, on aura alors un phénomène de compartimentation spatiale où le signal de chaque compartiment sera différent et dépendra des spins touchés par les impulsions.

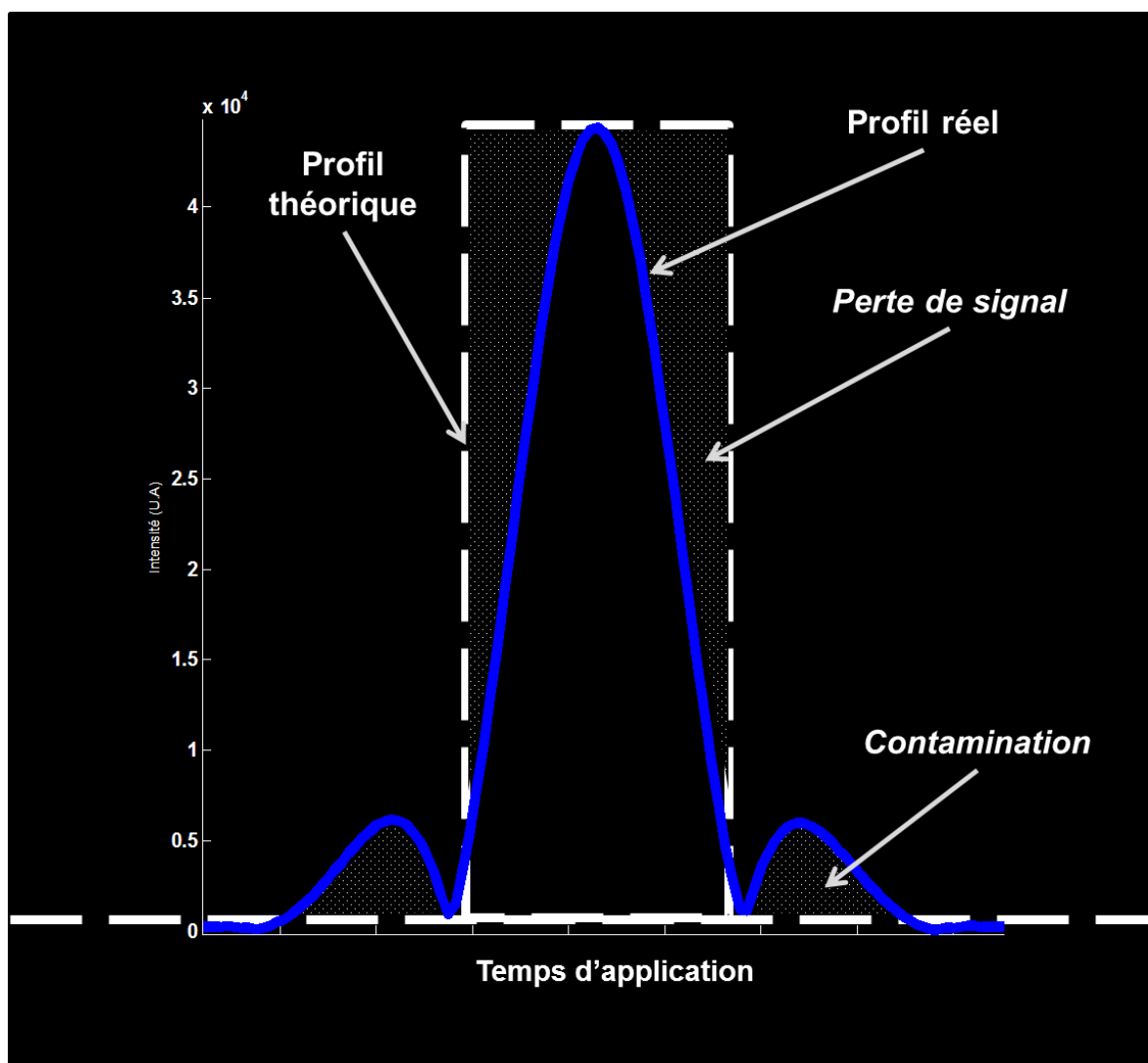
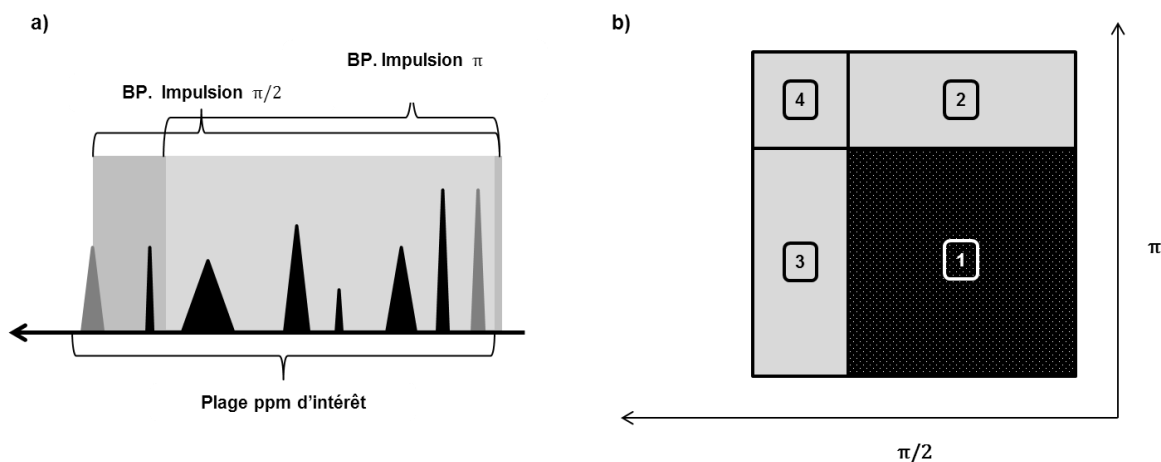


Figure 20 : Profil de sélection réel d'une impulsion de refocalisation sélective en fréquence : profil réel (en bleu) et profil théorique (en blanc).

Cet effet intervient principalement pour la détection et la quantification du Lactate, ce dernier ayant un doublet à 1,3 ppm et un quadruplet à 4,1 ppm [87][88][89].



4

Figure 21 : Illustration de l'effet de compartimentation d'un voxel par interférence spatiale : a) Les bandes passantes (BP) des impulsions ne vont pas couvrir totalement la région fréquentielle d'intérêt. b) Le voxel acquis sera décomposé en signaux correspondant à des zones où le signal proviendra de spins qui auront expérimentés les trois impulsions (1), deux impulsions (2-3), ou aucune (4).

La Figure 22 illustre la sélection par impulsion sélective du volume de la séquence L-COSY comparé à la PRESS. L'intégration du volume de sélection effective opéré par les impulsions montre que le signal émanant du voxel de la LCOSY est plus grand que celui de la JPRESS. Ce résultat de sélection est similaire à celui que Moonen *et al* [90] ont opérés au même calcul pour la STEAM et la PRESS montrant une sélection d'un voxel de la STEAM plus importante par rapport à la PRESS. Un rapport de sélection du volume opéré entre JPRESS et LCOSY de 0,82 est trouvé montrant une meilleure sélection du volume en séquence de type LCOSY. Cette différence peut s'expliquer par l'utilisation d'une impulsion de refocalisation qui en pratique a un profil beaucoup plus imparfait qu'une impulsion de 90° .

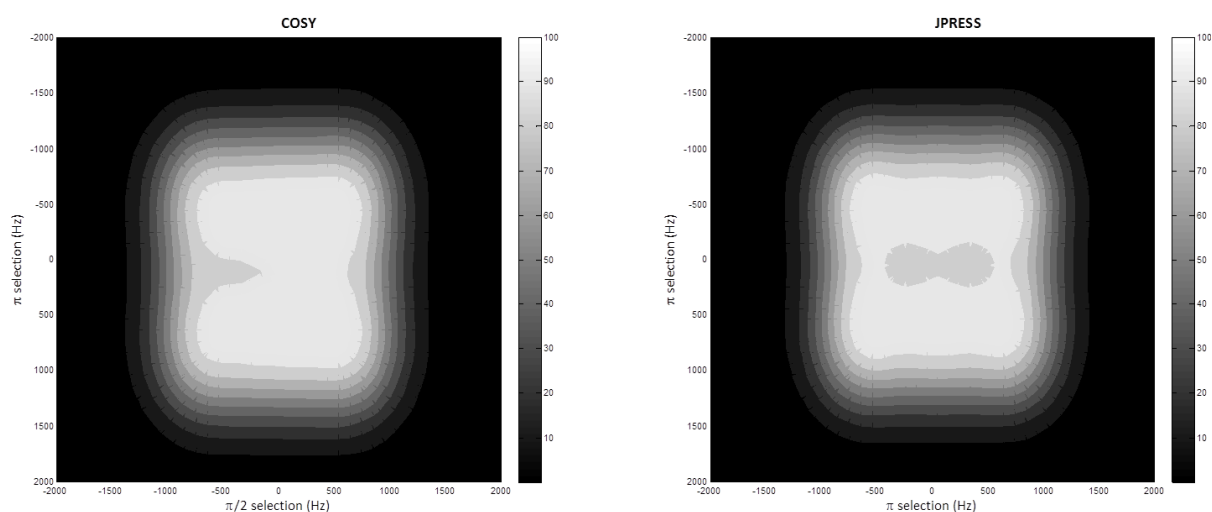


Figure 22 : Profil d'excitation des impulsions sélectives utilisées pour les séquences de corrélation (à gauche) et les séquences de type PRESS. L'intégration numérique des volumes montre un rapport de 0,82 entre la sélection de la JPRESS et la LCOSY.

Les paramètres d'acquisition de la séquence L-COSY permettant d'améliorer l'acquisition sont le temps d'écho, le temps de répétition, le nombre de points du FID à acquérir et les fréquences d'échantillonnage des différentes dimensions du signal. Le temps d'écho est généralement choisi de façon à être minimum, le temps de répétition doit être ajusté en fonction du T1 de l'échantillon et du champ B0, quant à l'échantillonnage l'ajustement se fera surtout en dimension indirecte : c'est dans cette dimension que l'on verra apparaître les différents effets de transfert de cohérence. Ziegler *et al* [24] montrent qu'il existe une fenêtre optimale en t1 pour les séquences de type COSY permettant d'obtenir un maximum

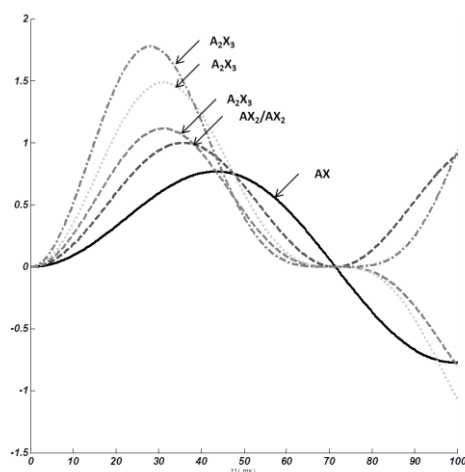


Figure 23 : Evolution de la cohérence de différentes populations de système de spins en fonction de t1

d'amplitude de transfert de cohérence. Cette fenêtre dépendra du système de spin à étudier et de leurs constantes de couplage. La Figure 23 montre les différentes évolutions pour différents systèmes de spin ayant une constante de couplage scalaire de 7Hz en fonction de t1. Les constantes de couplage des principaux métabolites d'intérêt *in vivo* sont comprises entre 5 et 14Hz. Pour une application *in vivo* de la séquence, il faudra aussi prendre en compte le phénomène de relaxation diminuant le signal dans la dimension directe et indirecte. Ainsi on privilégiera une plage en t1 comprise entre 10 et 80 ms.

Notons que lors de l'acquisition, le shim est un facteur important à prendre en compte car il permet de corriger les inhomogénéités de champ qui vont impacter grandement la qualité du spectre. Ce dernier s'effectue par un ajustement des différents gradients de shim de l'aimant par rapport au signal de l'eau acquis par le motif de séquence. Il existe plusieurs autres méthodes pour l'application de ces ajustements, comme l'utilisation d'une carte des inhomogénéités de champ B0 (méthode FieldMap) [91], ou une méthode de projection du champ à travers six directions (méthode Fastmap) [92]. Nous verrons dans la suite de ce

chapitre qu'en plus d'apporter une solution de shim, on pourra utiliser une de ces méthodes, la FieldMap pour mesurer les inhomogénéités de champs.

Le temps d'écho de notre séquence est optimisé en minimisant les différents temps des gradients et des impulsions. La séquence a été testée sur différents échantillons *in vitro* en solution et dans un fantôme de neuf métabolites dans un gel d'agarose faible concentration (2%). La séquence développée a permis d'observer les différentes résonances des différents échantillons. L'observation de tache de corrélation croisée est possible et présente l'intérêt de résoudre l'ambiguïté des différentes composantes rencontrés en SRM 1D comme présenté en exemple sur le fantôme par les Figure 25 et Figure 25 et pour un mélange contenant 9 métabolites dans un gel d'agarose à 2%.

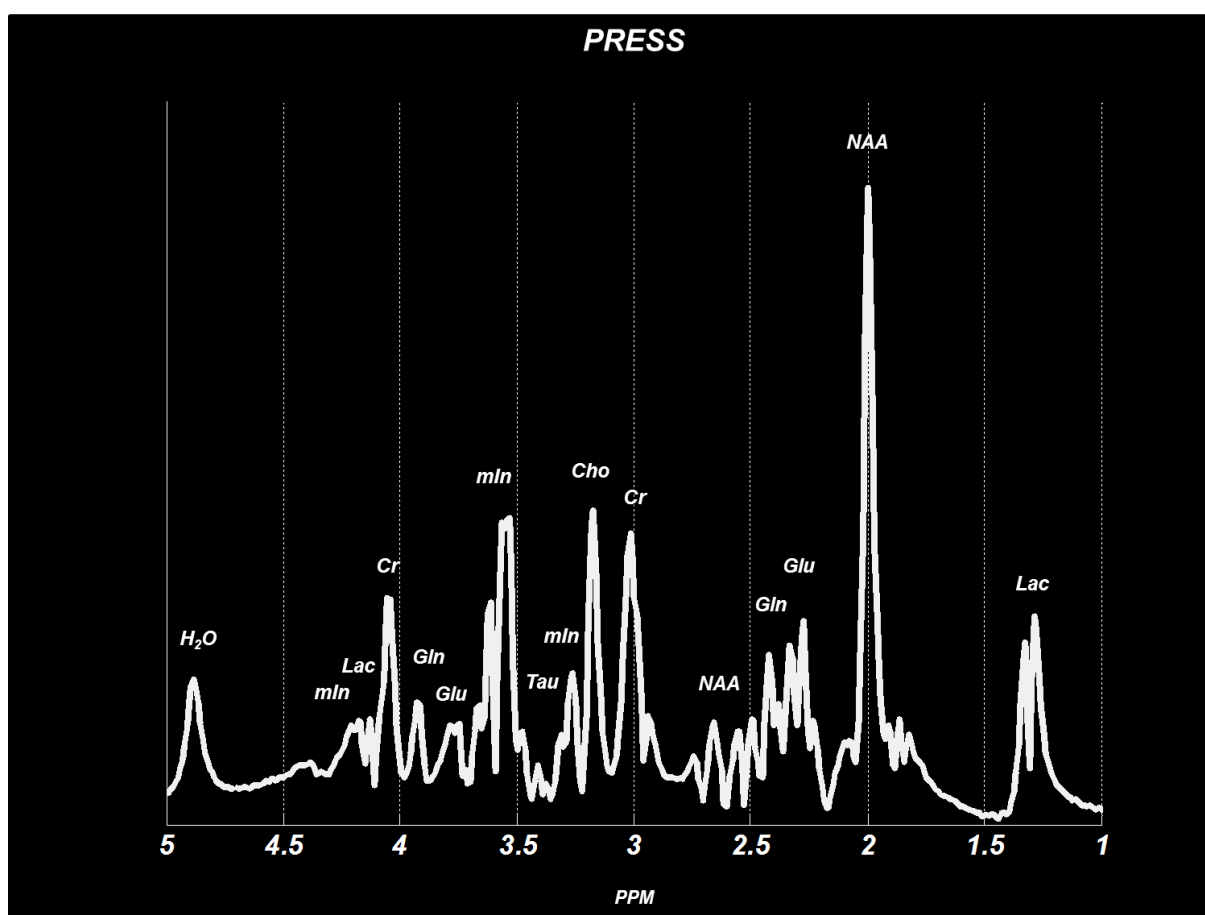


Figure 24 : Spectre 1D PRESS d'un fantôme de 9 métabolites dans un gel d'agarose à 2%.

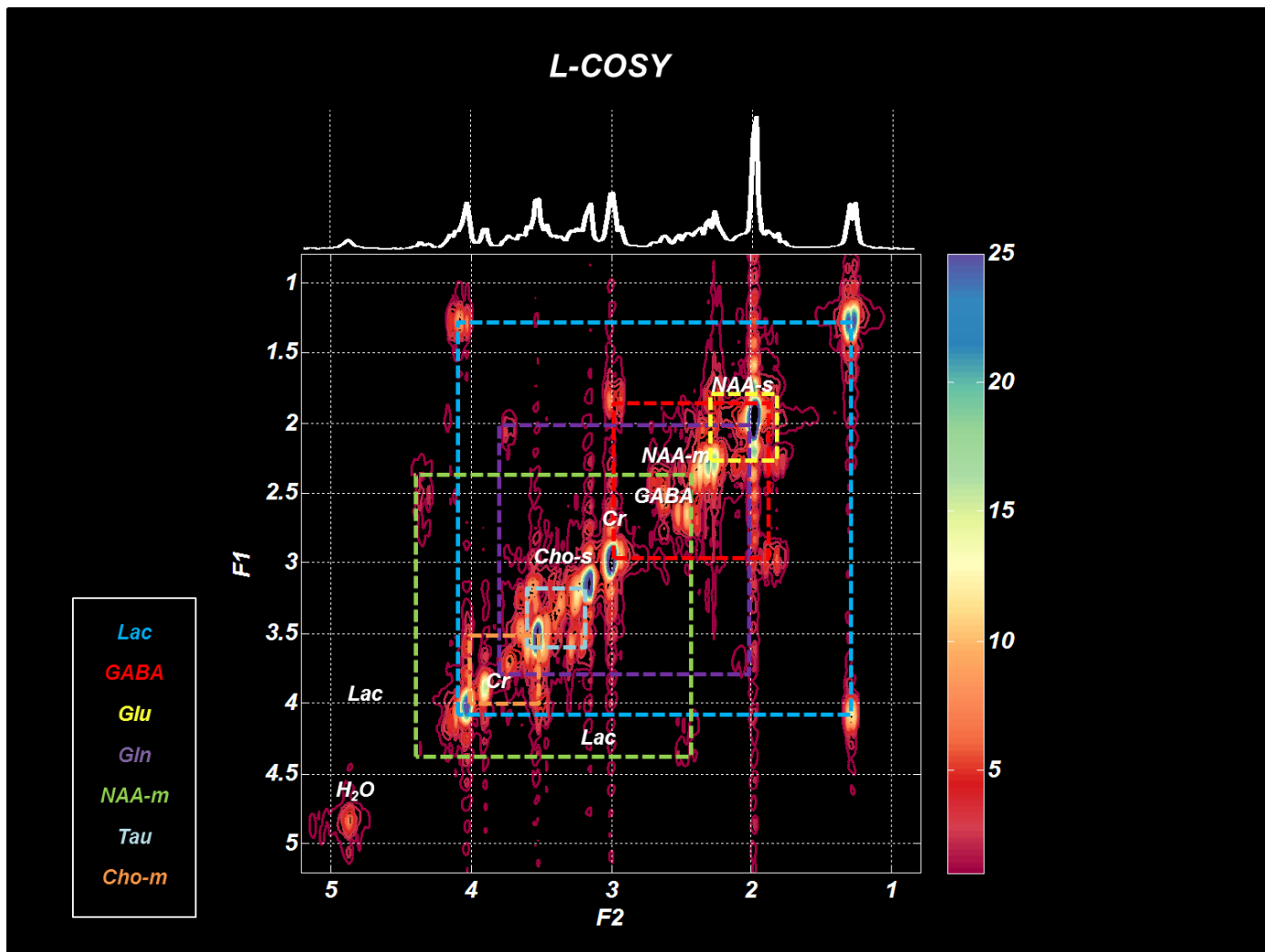


Figure 25 : Spectre 2D LCOSY sur le même fantôme de 9 métabolites dans un gel d'agarose que la figure 7. Représentation en magnitude avec projection le long de la dimension directe du spectre en haut. Le niveau de contour choisis permet de mettre en évidence 6 motif de taches de corrélation.

2. L-CTCOSY

En complément de la LCOSY, il existe une séquence comme vu au chapitre 1, s'appuyant sur une méthode à temps constant : la L-CTCOSY. Cette dernière présente l'intérêt de relier le signal acquis à des termes dépendants de la constante de temps t_c (modulation en $\sin(\pi J t_c)$). En ajustant cette dernière, on choisira la constante de couplage à favoriser dans le signal.

Cela va se traduire par un SNR plus important sur les termes de corrélations croisées du système de spin choisi mais aussi par une dispersion en phase des pics différents de la L-COSY : les taches d'autocorrélation seront en phase. L'implémentation de la L-CTCOSY a été effectuée à partir de la LCOSY développée. L'originalité de l'implémentation a été d'utiliser deux incréments entre l'impulsion de refocalisation: le premier s'incrémentant et le

second se décrémentant (Figure 26) afin de garder un temps constant entre la première et la dernière impulsion : l'impulsion de refocalisation se déplacera alors entre la première et la dernière impulsion. La séquence débutera donc par un temps t_c qui aura une conséquence sur la pondération du signal au moment de l'acquisition. Comme on peut le voir dans la Figure 26 cette constante de temps impose un échantillonnage en t_1 conditionné par $t_1 - t_c > 0$.

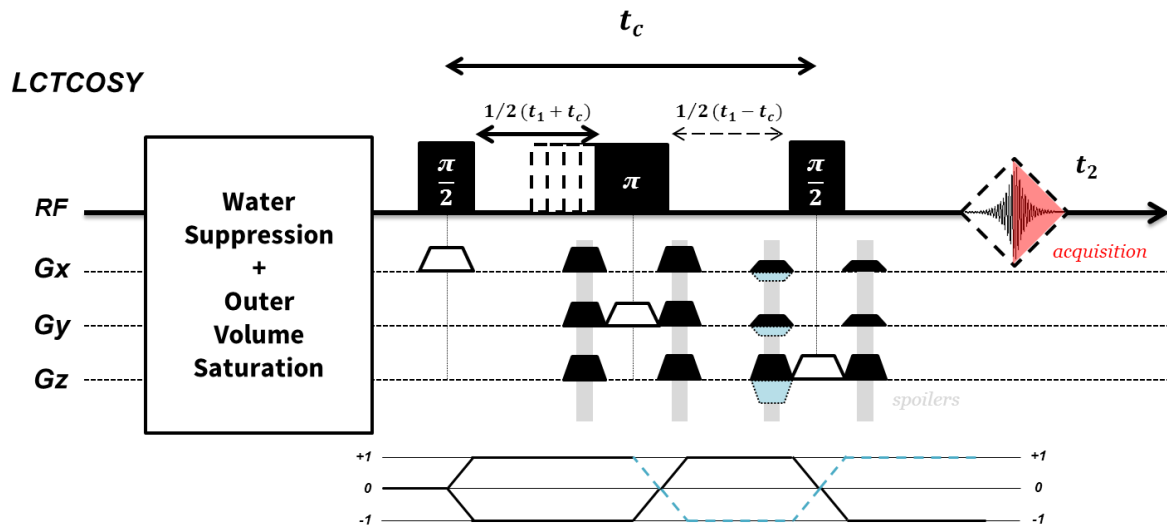


Figure 26 : Chronogramme de la séquence L-CTCOSY développé. L'incrément de temps a été développé pour que le temps entre la première et la dernière impulsion ait une durée égale au temps constant choisis. L'impulsion de refocalisat

Comme pour la LCOSY, il a été vérifié via oscilloscope les périodes de temps entre impulsions et le déplacement de l'impulsion de refocalisation, ainsi que la période de temps constant. Des acquisitions ont été menées pour vérifier l'effet de la constante de temps dans le spectre, un exemple de l'influence de la constante de temps est donnée Figure 27 pour un échantillon de Choline en solution à 4.7T.

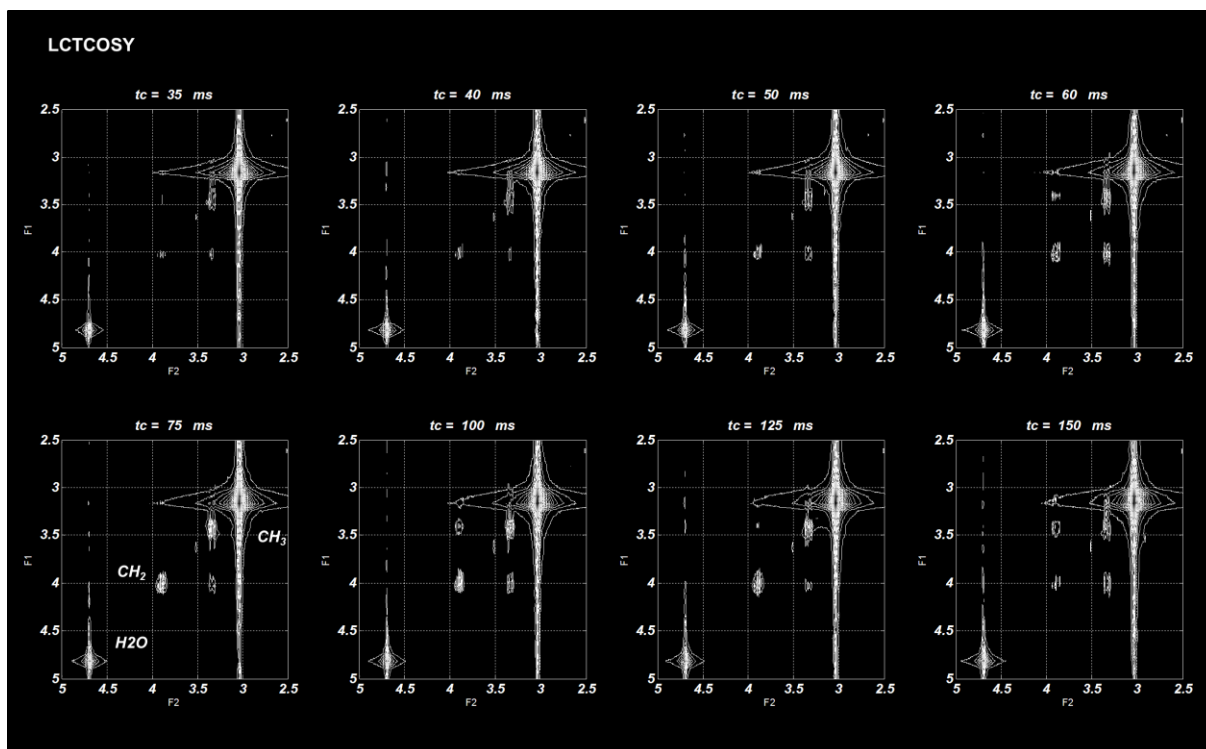


Figure 27 : Spectre L-CTCOSY de Choline en solution à 4.7T pour différente constante de temps t_c . Les groupements CH_2 de la choline ont une constante de couplage scalaire $J=5\text{Hz}$. Les taches de corrélation associées auront une valeur optimale autour de 100ms, ce qui est le cas pour nos acquisitions.

3. JPRESS

En plus des séquences de corrélation développées, une séquence 2D de type J-résolue a été utilisée durant cette thèse. Elle consiste en une incrémentation régulière du temps d'écho d'une séquence PRESS 1D. Un exemple de ce type de spectre est représenté en figure 7 pour un mélange de métabolite. La représentation des spectres de cette séquence est comme les séquences de corrélation, basé sur des contours. La différence avec la spectroscopie de corrélation réside dans l'expression de la dimension indirecte, donnant pour chaque groupement couplé la valeur de son couplage scalaire. Cependant *in vivo* dû à la proximité en déplacement chimique et des constantes de couplage assez proche, cette séquence ne permettra pas une résolution spectrale aussi importante que les séquences de corrélation, mais son SNR est plus deux fois plus important en théorie [93].

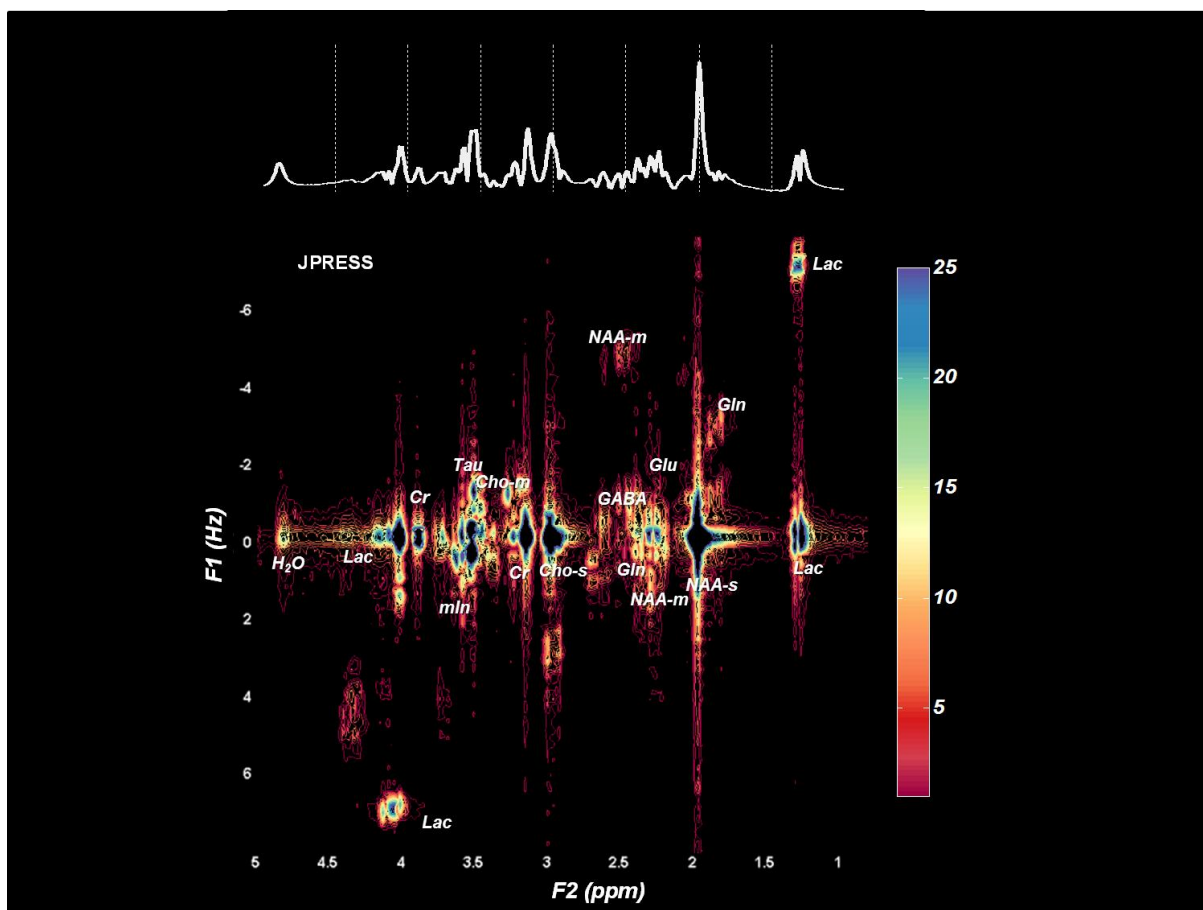


Figure 28 : Spectre JPRESS du mélange de métabolite dans un gel d'agarose. Les taches en dehors de la ligne à 0Hz indiquent la présence d'un couplage scalaire pour le métabolite.

4. Prétraitement des spectres 2D

Dans le domaine de la spectroscopie RMN, les signaux acquis font l'objet d'un prétraitement systématique. Ce dernier est effectué sur le signal acquis et permet après transformation de Fourier de ce signal, d'obtenir un spectre, visuellement, d'une meilleure qualité. Deux principaux traitements sont utilisés, à savoir le *zero-filling* et l'apodisation. Le zero-filling est une procédure qui permet d'augmenter de façon artificielle la résolution digitale des spectres obtenues en ajoutant des zéros à la fin du signal acquis, de cette façon on obtient une interpolation des données (par un sinus cardinal) dans le domaine fréquentiel. L'apodisation est largement répandue en haute résolution et consiste à appliquer une fenêtre de pondération au signal, c'est-à-dire multiplier le FID par une fonction pondérant certains points du signal. Cette procédure permet de gagner en SNR (visuellement) car atténuant les derniers points très bruités du FID avant transformation de Fourier. Cependant l'usage de tels traitements peut être délétère en termes d'information, pour des multiplets, l'usage d'une mauvaise fenêtre d'apodisation peut provoquer un recouvrement de pics assez proches en fréquence comme illustré sur la Figure 29.

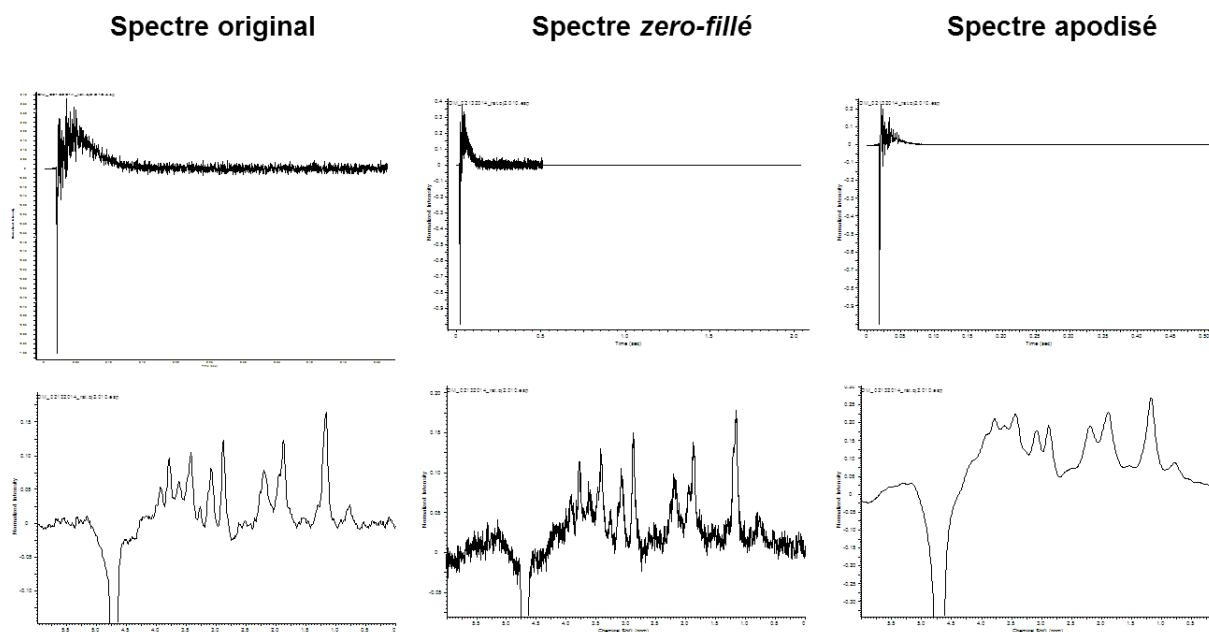


Figure 29 : Différents traitements disponible et leur effet sur le spectre.

En spectroscopie de corrélation, la répartition des taches de corrélation croisée se fait de manière symétrique autour de la diagonale d'autocorrélation. En utilisant ce principe de symétrie, on peut utiliser une procédure dite de 'symétrisation'. Cette procédure de symétrisation est utile pour augmenter la visibilité des taches de corrélation dans un spectre bruité : le signal de la partie supérieure du spectre par rapport à la diagonale est ainsi comparé par rapport à la partie inférieure, les endroits redondants entre ces parties correspondent à des taches de corrélation et seront ainsi pondérés, le reste du signal sera considéré comme du bruit qui sera soustrait. Une autre façon de symétriser les spectres 2D est de moyenner ces deux parties et d'afficher le long de cette diagonale la moyenne obtenue dans la partie supérieure et inférieure. Le signal des différentes tâches de corrélations sera ainsi rehaussé.

Des logiciels utilisés en haute résolution comme Topspin ou ACD NMR Processor permettent de facilement mettre en place ce traitement.

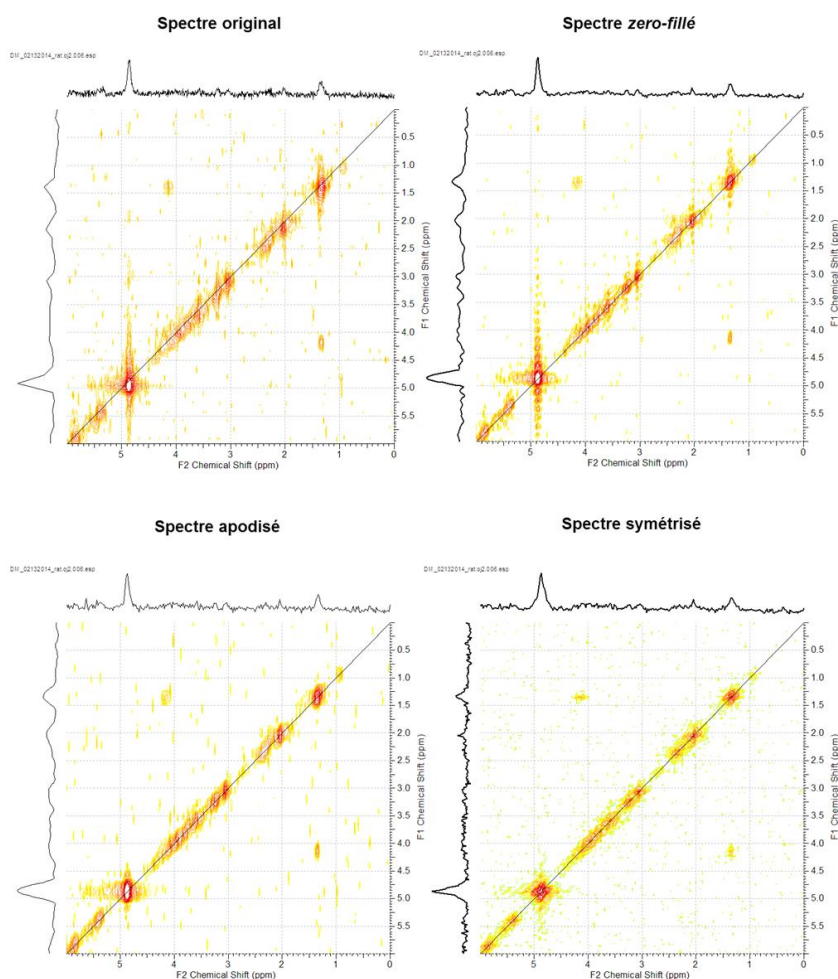


Figure 30 : Différent traitement sont possible sur le spectre 2D. Leur effet permet de mettre en évidence des taches de corrélation qui peuvent être noyé dans le bruit. Ici, en situation *in vivo* avec un spectre 2D de 4096x128 points du cerveau de rat acquis avec 4 accumulations les différents traitements permettent de mettre en évidence les taches de corrélation du Lactate (1.3x4.1 ppm).

5. Représentation des spectres 2D :

Un signal est acquis avec une durée t_1 s'incrémentant, faisant *évoluer* le motif de séquence à chaque répétition. Cette répétition permet d'avoir une évolution soit uniquement en couplage scalaire (séquences J-résolue), soit en déplacement chimique et couplage scalaire (séquences de corrélation). L'acquisition du signal pourra se faire soit au maximum de l'écho ou juste avant sa formation, Ce choix aura une incidence dans le signal au niveau de la pondération et sera présent au niveau du signal 2D temporel. Ces deux types d'acquisition sont représentés en Figure 31 pour une acquisition au maximum de l'écho pour la JPRESS (Figure 31a) et pour la LCOSY dans le cas d'un écho acquis juste avant sa formation (Figure

31b). L'influence du moment de l'acquisition va se répercuter dans le plan temporelle par une apparition d'une arrête en $t_1=t_2$, le long duquel va évoluer la pondération.

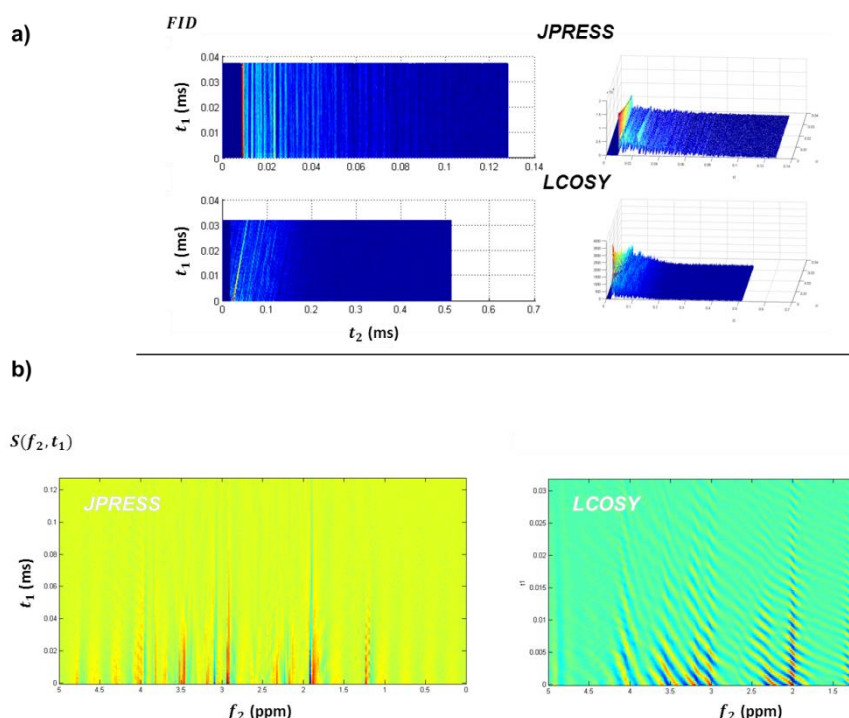


Figure 31 : FID acquis sur un fantôme de métabolites sans traitement. a) FID 2D Représenté en magnitude : Pour la LCOZY, on note l'apparition d'une diagonale caractéristique le long de laquelle évolue l'écho de transfert de cohérence, on observe le même comportement pour la L-CTCOSY. b) Interférogramme montrant les différentes évolutions et modulation le long de la dimension indirecte t_1 représenté en partie réelle. La largeur des différentes raies montrent une pondération différentes et plus importante le long de la dimension indirecte pour la LCOZY. Les différentes modulations en t_1 montrent une évolution différente par rapport à la JPRESS.

Les différentes étapes de prétraitement suivant permettent l'obtention des spectres 2D comme représentés en figure 7 et 10 et tout le long de cette thèse :

- L'élimination du filtre numérique présent sur les 71 premiers points (visible en temporel sur la Figure 31a).
- L'ajustement de phase d'ordre 0 calculé sur le premier point acquis du FID
- La normalisation de l'intensité par rapport au gain (digital) du receveur
- L'application d'une transformée de Fourier rapide le long de t_2 puis de t_1

II. Développement d'un algorithme de quantification des signaux de spectroscopie 2D localisée

1. Stratégie adoptée

.Le but de l'algorithme est d'estimer par un ajustement paramétrique un signal modélisant au mieux le signal physique acquis.

L'une des approches naturelle est de modéliser le signal fréquentiel par différentes composantes lorentzienne ou gaussienne. L'un des principaux défauts de cette méthode est de s'éloigner du phénomène physique à modéliser et contenant l'information brute. Pour aider la quantification une base de connaissance a priori peut être utilisée [13], notamment pour modéliser les composantes enchevêtrés.

Dans le cadre du développement d'un algorithme de quantification des signaux de spectroscopie 2D, une approche est proposée opérant dans le domaine temporel et modélisant le FID complexe à deux dimensions à l'aide d'une base de métabolite simulée comme connaissance a priori et un modèle du signal 2D. D'un point de vue mathématique le signal modélisé peut s'exprimer ainsi :

$$\widehat{S_{2D}}(t_1, t_2) = \sum_m c_m \hat{x}_m(t_1, t_2) R_m(t_1, t_2, T_{2inh}, T_{2m}) f_m(t_1, t_2, \Delta\omega_m, \phi_0)$$

Avec $\widehat{S_{2D}}(t_1, t_2)$ le FID 2D modélisé évoluant selon la dimension directe (t2) et indirecte (t1). Ce FID est la somme pondérée de chaque contribution des métabolites présent dans le spectre. Chacun de ces signaux sont pondérés en fonction de termes de relaxation(Rm), et de décalages en fréquence et de phases (fm). Pour chaque métabolite, un signal unité correspondant au groupement résonant du métabolite m est simulé par $\hat{x}_m(t_1, t_2)$. En fonction de la séquence utilisée, on aura une pondération différente propre aux effets de la séquence. Dans notre modèle de signal, on fait apparaître un terme commun pour chaque métabolite : le T_{2inh} . L'étude de la relaxation et notamment de l'utilisation du T_{2inh} comme connaissance *a priori* sera effectuée dans le chapitre 3 consacré à l'application des séquences et de l'algorithme développés.

Le T_{2inh} est dû aux inhomogénéités de champs B0 dans le voxel et s'exprime tel que

$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_{2inh}}$. Avec T_{2inh} la relaxation due aux inhomogénéités dans le voxel. Ces inhomogénéités sont principalement dues au médium ; *in vivo* on aura beaucoup d'inhomogénéités dû aux structures biologiques. L'utilisation d'une carte des inhomogénéités de champs permet de d'appliquer via le système de gradients une compensation des

inhomogénéités de champ. Ce phénomène d'inhomogénéité touche de façon commune les différents composés.

La quantification paramétrique dans le domaine temporel consistera à trouver l'ensemble des paramètres exprimant de façon la plus exacte le FID acquis. Pour trouver ces paramètres, il existe un ensemble de méthodes issues du domaine de l'optimisation non linéaire. La plupart de ces méthodes sont présentes sous forme de boîte à outil sous le logiciel de calcul numérique MATLAB. L'idée derrière l'optimisation de ces paramètres est de réduire la distance entre le modèle \hat{S}_{2D} et le signal acquis FID_{2D} (moindre carré). La *minimisation* de cette distance s'effectue dans notre processus par l'utilisation d'un algorithme de moindre carré non-linéaire de type Levenberg-Mardquart dont la fonction de coût C est donné par :

$$C = (FID_{2D}(t1, t2) - \hat{S}_{2D}(t1, t2))^2$$

L'utilisation d'une expression analytique de notre modèle permet d'exprimer la matrice Jacobienne associée dont l'algorithme de minimisation a besoin pour trouver les extremums, afin de pallier l'utilisation d'une matrice Jacobienne approximé numériquement à chaque itération pouvant apporter des erreurs dans l'estimation, mais réduisant la vitesse de convergence et être couteux en temps de calcul. Le calcul de la matrice Jacobienne et du modèle a été implémenté dans une même fonction permettant son utilisation à la fois dans l'optimisation mais aussi dans le calcul des bornes de Cramér Rao. L'un des problèmes liés à la minimisation est le nombre de paramètre augmentant le nombre de solutions possible. Ainsi il existe un certain nombre d'ensemble de paramètres qui minimisent notre fonction de coût, ce problème est lié aux minima locaux de notre fonction à minimiser. Pour diminuer ce problème, il convient d'avoir des paramètres initiaux les plus proches des valeurs à trouver et d'appliquer des contraintes fondées sur des a priori sur les paramètres à estimer. La Figure 32 illustre ce problème à travers une projection de l'ensemble des paramètres à trouver

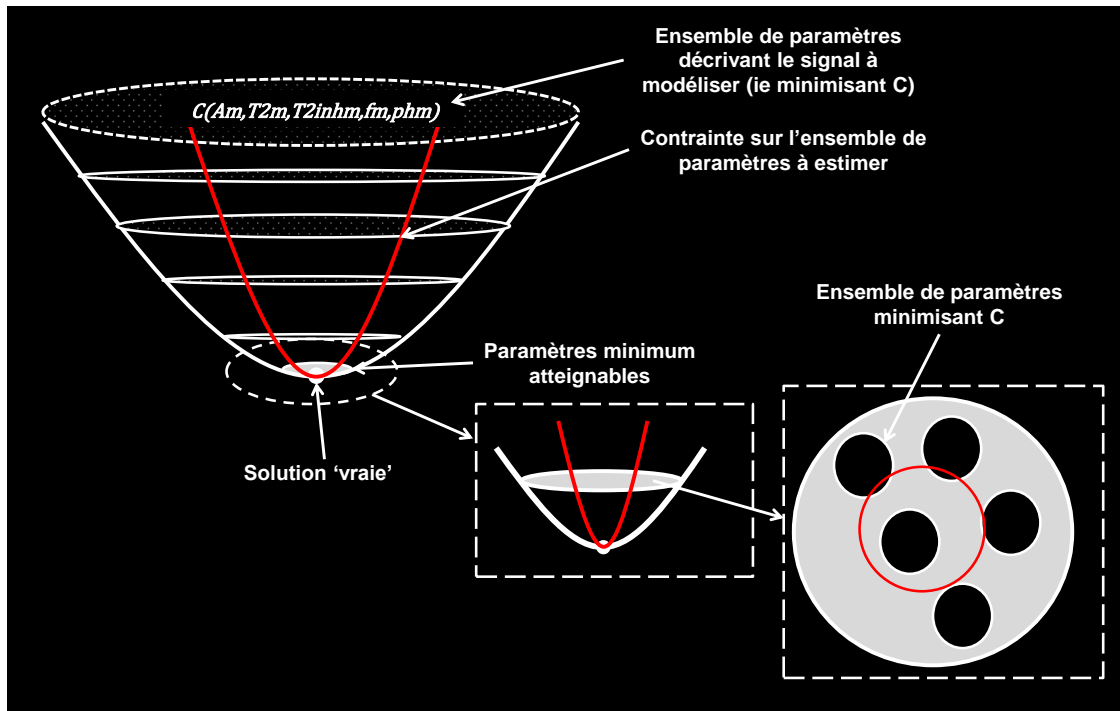


Figure 32 : Illustration de la procédure de minimisation. L'un des problèmes d'un nombre trop important de paramètres à estimer est la présence de minima locaux. L'utilisation de contraintes sur les paramètres telle l'utilisation de valeurs minimales et maximales permet de réduire l'espace des paramètres à parcourir pour aboutir à une solution. L'algorithme de minimisation calcule une trajectoire qui mènera vers cet ensemble de paramètres minimisant la fonction de coût.

2. Bornes de Cramer Rao

Comme vu au chapitre 1, il est difficile de définir une erreur de mesure *in vivo*, c'est pour cela que l'on utilise la théorie des bornes de Cramer Rao afin d'obtenir une *estimation* de cette erreur. À travers la valeur donnée par cette théorie, on aura une approximation de l'écart type théorique de la mesure si la seule source d'incertitude venait d'un bruit de mesure

D'une façon générale, les bornes de Cramer-Rao permettent de fixer une limite inférieure sur la variance de l'erreur qu'il est possible d'atteindre dans l'estimation d'un paramètre. Une des limitations de l'utilisation des CRBs proviennent du modèle décrivant le signal. La théorie des CRBs est indépendante du processus utilisé pour l'estimation des paramètres, c'est-à-dire de la méthode de quantification et par conséquent présentent un standard de précision pour qualifier une quantification.

D'un point de vue pratique, les CRBS se calculent à partir de la matrice d'information de Fisher calculée à partir d'un modèle comme par exemple le modèle de signal de spectroscopie \hat{S} défini en 2a pour un bruit donné σ_{bruit} . Ce dernier correspond à l'écart type du bruit d'une ligne dans le domaine considéré, dans notre cas il s'agit d'un bruit temporel.

Le bruit a considéré est un bruit 2D, il est donc pondéré par le nombre de points du domaine acquis (n_1, n_2) et l'accumulation du signal (N_A) :

$\sigma_{bruit\ 2D} = \sigma_{bruit} \sqrt{N_A n_1 n_2}$ La matrice d'information de Fisher est donnée par :

$$F_p = \frac{1}{\sigma_{bruit\ 2D}^2} \Re(D^H D) \quad (1)$$

Avec D^H indiquant la conjugaison Hermitique de D , matrice des dérivées partielles de la fonction modèle contenant l'information *a priori* $\hat{\mathbf{S}}_n$ en fonction des paramètres p_l calculées pour notre cas analytiquement :

$$D_{np} = \frac{\partial \hat{\mathbf{S}}_n}{\partial p} \quad (2)$$

Après inversion de la matrice de Fisher (aussi appelée matrice de covariance des paramètres), les bornes de Cramér Rao de chaque paramètres \mathbf{CRB}_{pl} sont ensuite obtenues par la relation :

$$\sigma_{pl} \geq \mathbf{CRB}_{pl} = \sqrt{(F_p^{-1})_{ll}} \quad (3)$$

Cette dernière valeur est la plus petite valeur que peut prendre l'écart-type de l'estimation du paramètre à condition que l'estimateur choisit soit non biaisé, c'est-à-dire que la moyenne des estimations d'un paramètre tend vers *la valeur vraie* et enfin la dispersion de variance soit la plus petite possible (cet estimateur sera alors *efficace*). En pratique, dans un processus de quantification, on qualifiera de *précis* une estimation d'un paramètre quand les CRBs <10%. En fonction de l'application in vivo, les CRBs <20-30% sont suffisamment précis pour être exploités, mais nécessite une précaution dans leur interprétation[94]. Ces dernières expressions peuvent aussi bien être utilisées dans le domaine temporel que fréquentiel.

On voit selon l'équation (1) que les CRBs dépendent du bruit du signal mesuré. En fonction du bruit de l'acquisition il devient difficile de discriminer chaque composante du signal.

La théorie des CRBs est valable à condition que les paramètres à estimer dans notre processus soient non biaisés. Afin de vérifier cette condition, une étude Monte Carlo a été effectuée en prenant un signal LCOSY pondéré par des paramètres fixés et en ajoutant un bruit blanc gaussien à ce dernier. Le bruit blanc a été fixé à une valeur de 15% du signal. Le

processus de quantification de ce signal a ensuite été réalisé 200 fois. La Figure 33 indique les résultats obtenus sur le paramètre d'intérêt qu'est l'amplitude en comparaison aux paramètres utilisés pour générer le signal original non bruité. L'amplitude estimée tend vers l'amplitude de départ. Les CRBS sont faibles pour les singulets et montrent une variabilité importante pour l'estimation des multiplets.

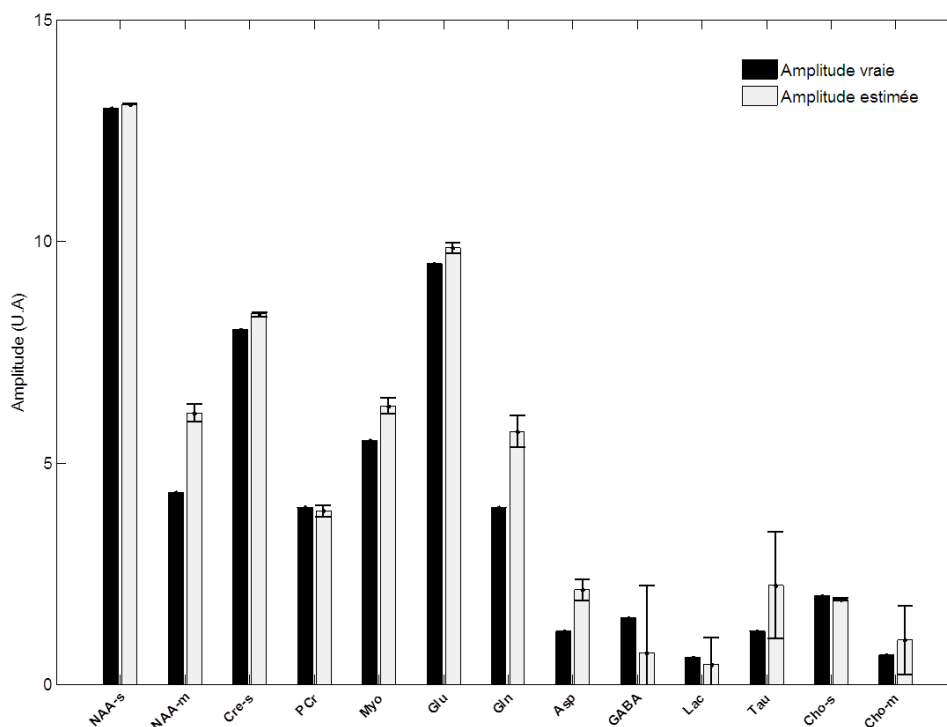


Figure 33 : Résultat d'estimation du paramètre amplitude d'un signal LCOSY bruité. L'estimation a été réalisée 200 fois. Les amplitudes données sont les amplitudes moyennes de ces estimations. La moyenne des bornes de Cramer Rao de chaque estimation est donnée en erreur relative.

En utilisant le modèle pour une base de métabolite et des paramètres fixés tel que l'amplitude des signaux des métabolites soit similaires, les CRBs ont été calculés (Figure 34) pour différent rapport signal à bruit correspondant à différent niveaux de bruit et/ou nombre d'accumulation. Les CRBs évoluent avec le RSB d'une manière presque exponentielle et apparaissent élevés pour les multiplets en comparaison des singulets.

Les CRBs peuvent aussi être utilisés pour optimiser la séquence utilisée, la Figure 35 montre les CRBs sur l'amplitude sur des métabolites d'intérêt pour différents échantillonnage en dimension indirecte pour la séquence LCOSY. La plage d'échantillonnage optimale est comprise entre 3000 et 6000 Hz, correspondant aux valeurs utilisés dans la littérature [81][46].

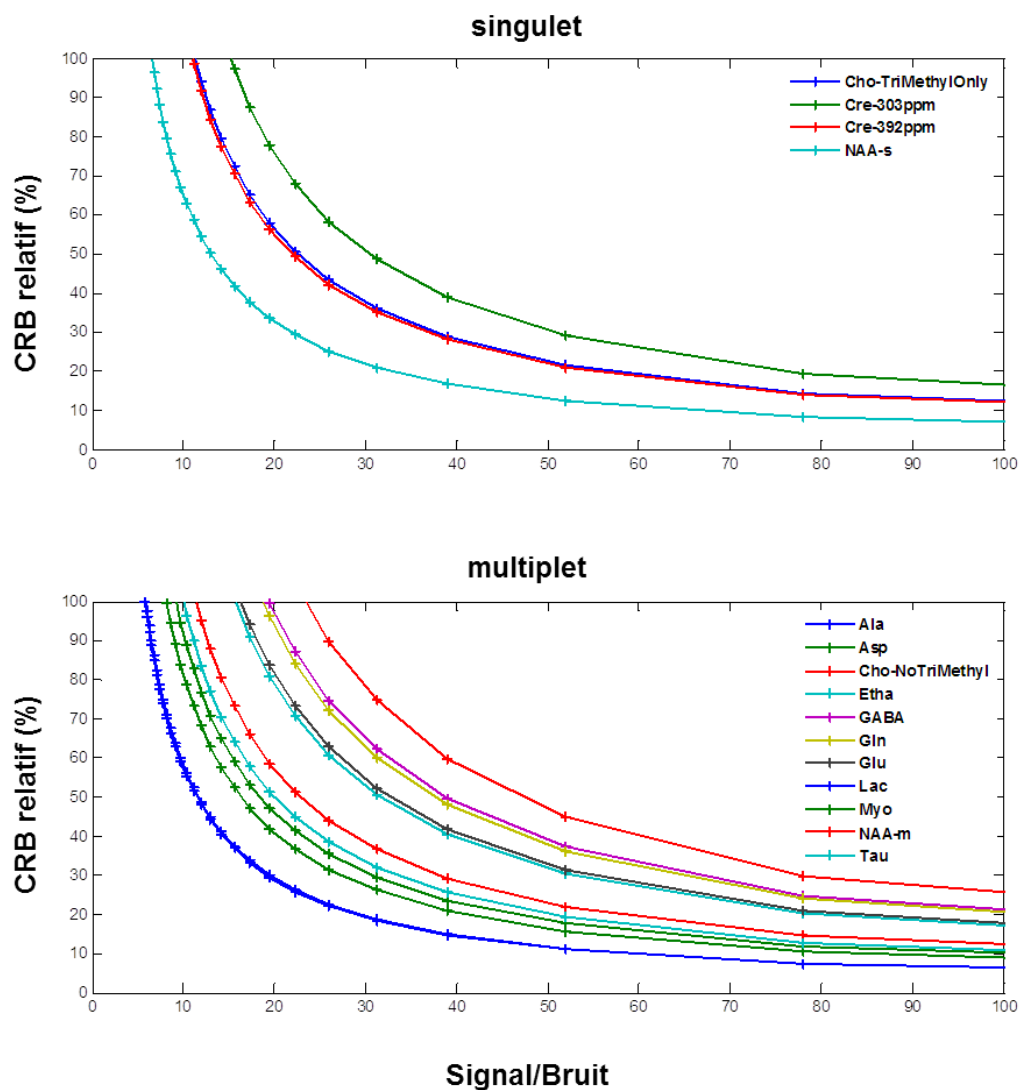


Figure 34 : Évolution des bornes CRBs pour l'estimation de l'amplitude en fonction de l'introduction d'un niveau de bruit proportionnel au signal temporel du singlet du NAA pour une séquence LCOSY. Une base de métabolite utilisant des paramètres d'amplitude autour de leur valeur *in vivo*, T_2 variant autour $200\text{ms} \pm 10\%$ et de $T_{2\text{inh}} = 30\text{ ms}$ ont été utilisés.

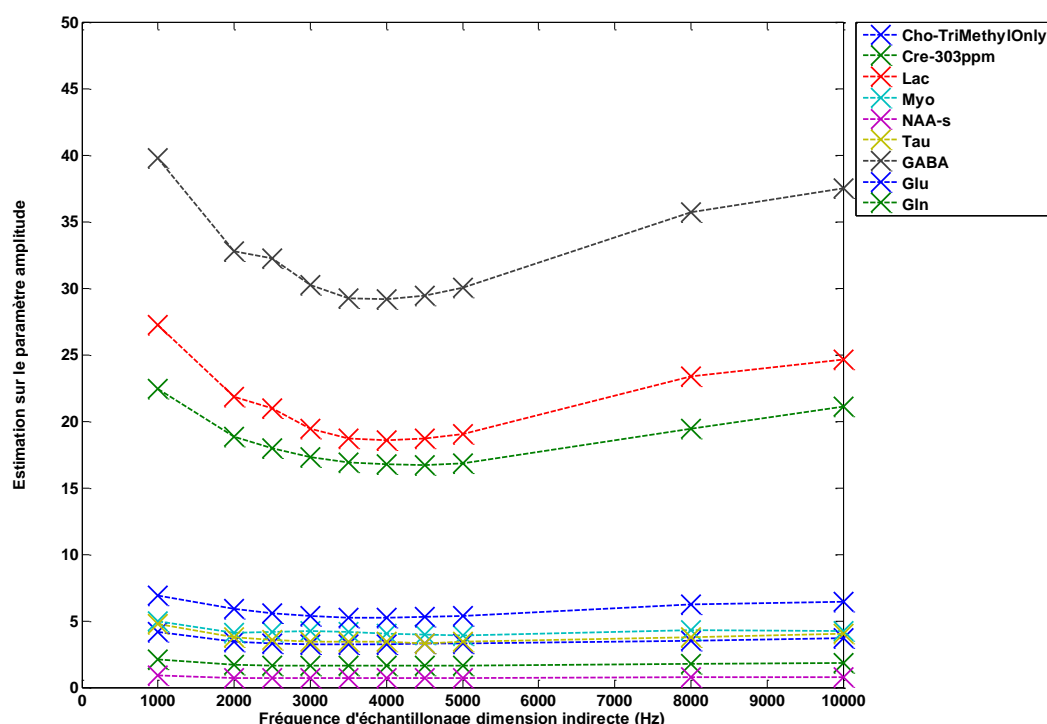


Figure 35 : Bornes de Cramer Rao sur l'amplitude calculée pour différent métabolite ayant une amplitude proche pour différents pas d'échantillonnage pour la LCOSY.

3. Simulation des séquences de spectroscopie 2D

Comme vu au chapitre 1, il existe de nombreux outils pour simuler une base de métabolites. Au cours de cette thèse, différent outils ont été utilisés ; GAMMA, SIMPSON, SPINACH. Ce dernier outil a été retenu car présentant des intérêts pratique : définition des métabolites semblable à GAMMA, utilisation sous MATLAB, rapidité d'exécution, support et communauté actifs. SPINACH se présente comme une bibliothèque de fonction et permettant l'exécution de la simulation. La figure 11 représente la procédure pour obtenir une base de métabolite via SPINACH à partir d'un spectre 2D jusqu'à l'obtention du FID simulé. Le calcul dans cette simulation est une reformulation optimisé pour le calcul numérique de la physique des spins : SPINACH se présente comme une implémentation matricielle du formalisme opérateur produit formulé dans un espace de Liouville. Dans ce dernier espace, il existe des équivalents aux différents opérateurs physiques Hilbertien dans cet espace : l'Hamiltonien sera par exemple décrit par un Liouvillien dans la simulation.

a) Base de métabolite simulée

L'un des premiers points de la simulation est de mettre en place une base de métabolite. La description des systèmes de spin (déplacement chimique et constante de couplage scalaire) des différents métabolites peut être obtenue dans Govindraju *et al* [95]. Elle doit être parfois raffinée en comparant les composants présents – ou supposés présents-, dans le spectre et la littérature. Une automatisation ajustant les constantes de couplage et déplacement chimique de la base de connaissance est réalisée dans des algorithmes tels TARQUIN. Dans le processus de quantification développé dans ce travail, cette étape a été intégrée pour les spectres de corrélation en lisant le spectre 2D comme un ensemble de spectre 1D en f1 et en f2 : les pics ayant la même fréquence en f1 et f2 seront détectés comme autocorrélation alors que les pics associés en (f1, f2) et (f2, f1) seront des corrélations

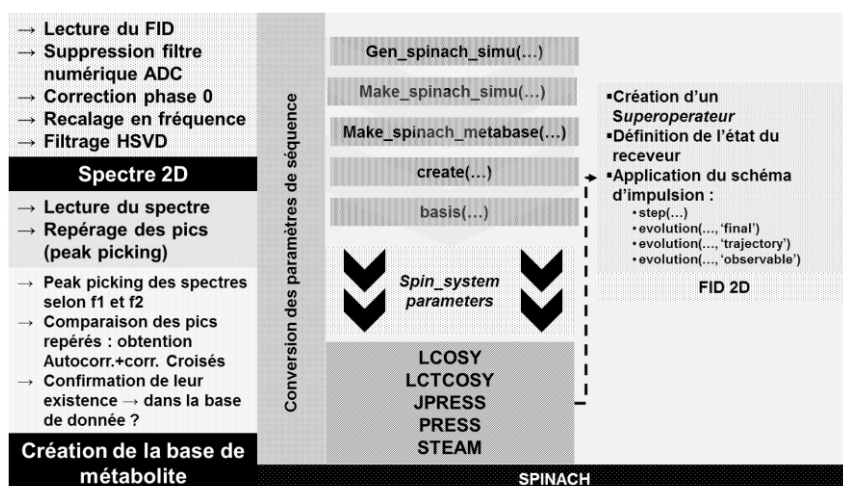


Figure 36 : Processus de création de la base de métabolite simulée à l'aide de SPINACH

croisées.

L'utilisateur est libre dans ce processus d'ajouter lui-même sa base de métabolite et les différents paramètres de séquences à utiliser. Le processus va ensuite faire appel à différentes fonction pour traduire les paramètres importés du spectromètre en paramètre utilisable par SPINACH via les fonctions *make_spinach_simu*, *make_spinach_metabase*. À partir de cette étape la simulation SPINACH est réalisable. L'appel à ce dernier se fait en fonction de la séquence à simuler. Un exemple de code commenté est donné en annexe C pour les séquences de spectroscopie 1D PRESS et 2D LCOSY.

b) Implémentation de la simulation

Les simulations ont été mises en place en décrivant le chronogramme des différentes séquences et leur action sur le système de spin à travers l'application des différents opérateurs d'impulsion. Ces opérateurs d'impulsions sont définis comme la création de cohérence d'ordre $p=\pm 1$ pour les impulsions d'excitation et d'inversion d'ordre pour les impulsions de refocalisation. Ces derniers opérateurs ont été définis en prenant en compte la phase de l'impulsion de départ. Une possibilité offerte par SPINACH est l'utilisation du profil d'impulsion utilisée lors de l'acquisition (importé depuis Topspin) permettant de simuler l'effet des différents types d'impulsions (Hermite, Gauss, Sech, etc...) sur la plage de fréquence utilisé. Cette dernière possibilité permet de prendre en compte la localisation de la séquence comme cela a été montré pour la simulation de la PRESS sous GAMMA [96]. Cette dernière possibilité est encore à expérimenter et n'a pas été utilisée dans la génération de la base de métabolite. Entre les impulsions, le système de spin va évoluer selon un temps défini dans la séquence, entre la première et la seconde impulsion, ce temps est de $TE1/2$ par exemple. L'évolution du système de spin (fonction *evolution(...)* dans SPINACH) consiste en l'application d'un propagateur sur la matrice densité de départ en restreignant l'espace des différents états : cette dernière peut être *dynamique* (pour tous les temps en $t1$) ou *statique* (pour un temps en $t1$). Cette dernière évolution *statique* peut aussi s'effectuer sans restriction en utilisant la fonction *step(...)*. L'implémentation de la durée incrémentale sous SPINACH consiste à utiliser la fonction *evolution(...)* retournant une matrice pour chaque $t1$ de matrice densité. Cette approche purement matricielle contraste avec GAMMA, où cette évolution consistait à créer une boucle *for* pour chaque temps $t1$, ici son obtention est matricielle. L'obtention finale du FID 2D simulé consiste à la réduction des différents états à ceux définis comme observables (dans notre cas les cohérences simple quantum).

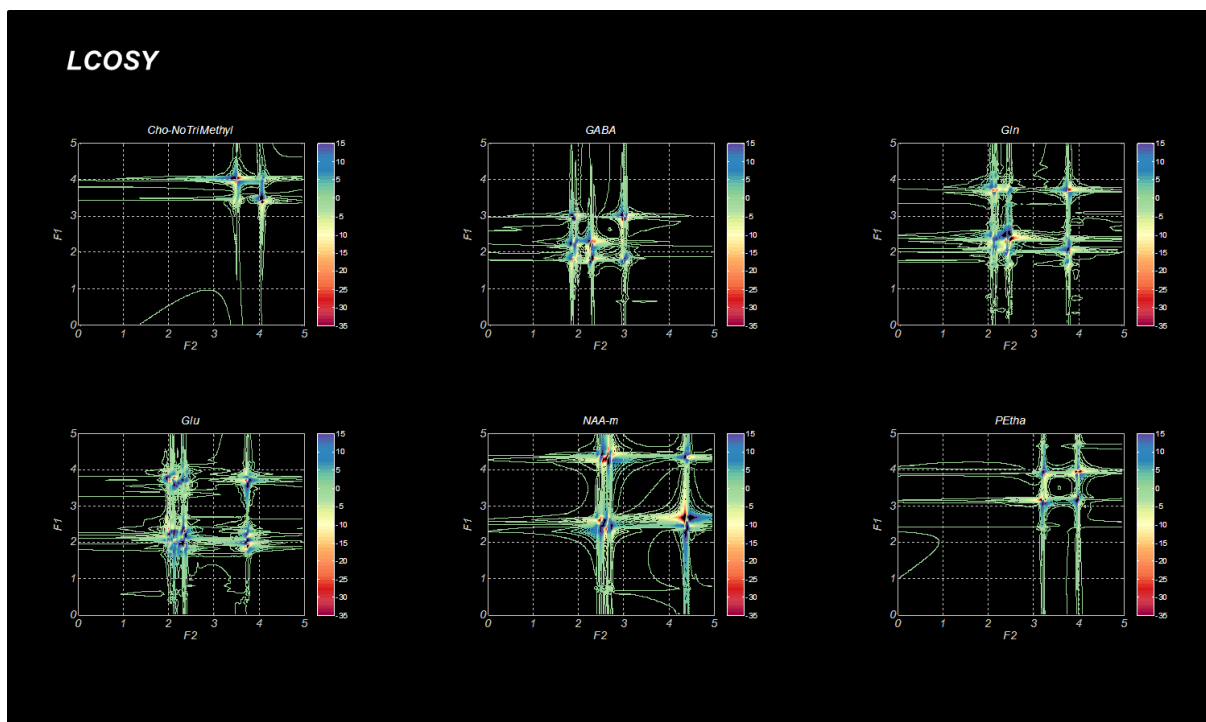


Figure 37 : Représentation de spectre LCOSY simulé sous SPINACH pour des métabolites fortement couplés pour un champ $B_0 = 7T$ en utilisant un échantillonnage dans les deux dimensions de 4000Hz, un nombre de point de 1024 pts en t_2 et 128 en t_1 . Le signal simulé a été apodisé en utilisant un facteur d'amortissement de 15Hz. La partie réelle du spectre est représentée sous forme de contour entre 0 et 5 ppm pour les dimensions f_1 et f_2 .

3. Effet des inhomogénéités sur le signal et la quantification

L'inhomogénéité du champ statique, caractérisé par la constante de temps T_{2inh} est un phénomène qui touche tous les spins du voxel. Lors de la procédure dite de '*shim*' (*de réglage des inhomogénéités*), des gradients vont s'ajouter au champ principal pour compenser ces inhomogénéités de champs. Pour savoir comment appliquer ces gradients une stratégie est de réaliser une carte des inhomogénéités de champs B_0 , selon la méthode FieldMap proposée par Bruker. Cette carte est obtenue par l'application d'une séquence 3D double écho de gradient et une reconstruction basée sur la différence de phase des échos acquis. Pour chaque voxel de l'image, on va acquérir sur la fréquence de l'eau, en une fois, deux échos à différent temps. Ces échos seront pondérés en T_2^* , la seule différence dans l'évolution entre ces deux échos sera leur pondération en T_2 , ainsi le reste des effets sera principalement dû aux effets d'inhomogénéités. Utilisé en imagerie, cette carte permet de corriger les artefacts émanant des inhomogénéités dans les séquences d'écho planaire (EPI [97]).

Ces inhomogénéités vont agir dans le spectre en élargissant les différentes résonances. Cet effet sera critique, car réduira sensiblement le SNR de chaque résonance, mais cela jouera aussi au niveau de la quantification en accentuant la corrélation entre les paramètres d'amortissement et d'amplitude.

Une possibilité pour réduire le nombre de paramètre est d'utiliser la forme d'un pic de référence, typiquement celui de l'eau et d'utiliser cette forme de raie comme une composante de chaque pic des métabolites à modéliser [98]. Cette approche correspond à une évaluation de la part de la relaxation en $T2_{inh}$ dans les différents pics du spectre. Ainsi en obtenant une mesure de ce dernier $T2_{inh}$, on diminuera le nombre de paramètres à estimer et donc l'erreur d'estimation sur ces paramètres. L'utilisation d'une carte des inhomogénéités de champ nous permettra donc de mesure dans notre voxel et ainsi d'obtenir une mesure du $T2_{inh}$. Nous verrons dans le chapitre 3 une application de cette carte afin d'obtenir une connaissance *a priori* supplémentaire.

Conclusion

Les séquences LCOSY et LCTCOSY ont été développés en se basant sur un schéma de localisation PRESS. Des spectres 2D de corrélations localisés et JPRESS ont été obtenus sur différent échantillon. Une procédure de quantification se basant sur un modèle paramétrique et utilisant une connaissance *a priori* a été développé. Cette dernière se base sur une connaissance *a priori* qui est obtenue en utilisant SPINACH, un outil permettant de simuler de manière efficace et en peu de temps les différents métabolites en fonction des séquences.

Différents outils permettant le traitement et la visualisation des spectres 2D ont été développés sous MATLAB, notamment le calcul des bornes de Cramér Rao, permettant d'indiquer la précision de notre estimation.

Dans les chapitres suivants, nous utiliserons les outils présentés afin d'analyser l'approche quantitative de ces séquences à travers une étude *in vitro*. Nous verrons ensuite l'utilisation *in vivo* de la spectroscopie de corrélation à travers une application originale de la LCOSY : L'exploration de la composition lipidique du foie.

Chapitre 3 :

Application de la SRM 2D quantitative pour l'exploration des métabolites cérébraux

Introduction

Les éléments de ce chapitre reposent sur l'utilisation des outils développés et présentés au chapitre 2. Il est présenté sous la forme d'un article soumis au journal *JMR (Journal of Magnetic Resonance)*. Le contenu de ce dernier présente les différentes séquences et les modèles paramétriques utilisés dans la procédure de quantification. Cette dernière est étudiée à travers une étude *in vitro* sur les principaux singulets rencontrés lors d'expérience de SRM sur le cerveau : la choline, la créatine et le N-Acetyl Aspartate pour les différentes séquences de SRM 2D à notre disposition. L'étude de ces singulets a été effectué dans deux situations différentes où le T2inh primait sur les contributions des différents T2 des métabolites et inversement. À la suite de cet article, des éléments complémentaires sont apportés et la faisabilité de la spectroscopie 2D de corrélation *in vivo* est abordé.

Abstract

Two-dimensional spectroscopy offers the possibility to unambiguously distinguish metabolites by spreading out the multiplet structure of J-coupled spin systems into a second dimension. Quantification methods that perform parametric fitting of the 2D MRS signal have recently been proposed for JPRESS but not for correlation spectroscopy. Here, a whole metabolite quantification approach is studied for 2D MRS signals, including correlation spectroscopy. Parameterized models are given for three localized 2D MRS sequences and experimentally validated. The issues related to the implementation and the use of the quantification algorithm is described with the help of the Fisher matrix formalism. The parameterized models enable the computation of the lower bound for error variance (generally known as the Cramér Rao bound) on the concentration estimated from these 2D MRS signal fittings. Regarding these CRBs, despite the theoretical signal loss per unit of acquisition time, the LCOSY quantification shows to have interesting estimation performances for some coupled metabolite compared to JPRESS.

Keywords: 2D MRS quantification, Fisher information formalism, Cramér Rao Lower bounds, LCOSY, JPRESS

1 Introduction

Proton Magnetic Resonance Spectroscopy (MRS) is a powerful tool for metabolic profiling because the technique is non-invasive and can be quantitative. For *in vivo* applications, the major difficulty is to have sufficient spectral resolution and signal to noise ratio to enable accurate quantification of metabolites or biochemical compounds of interest. The spectral resolution depends mainly on the spectral dispersion, the resulting peak linewidth and the spectral overlap. While field strength [1], field homogeneity [2] and relaxation constants can act on the first two, spectral overlap is generally handled in one dimensional MRS by post-acquisition spectral deconvolution employing a parametric model fitting approach [3-6]. An alternative approach, besides editing sequence and which is largely used in high resolution spectroscopy for liquid state analysis, organic and analytical chemistry, is to increase spectral resolution by unraveling the spectral information along a second dimension. This so-called indirect dimension is obtained by incrementing a delay in the MRS pulse sequence during which J-coupling and/or chemical shift of the spin system evolve. Several two-dimensional sequences have been proposed to overcome resolution limitation in *in vivo* applications [7]. By incrementing the echo time in a PRESS sequence, the indirect dimension allows to access J-scalar coupling values. This sequence, called J-resolved PRESS (J-PRESS) [8], is the localized 2D MRS sequence which is the most easy to implement on an imaging scanner as the PRESS sequence is well mastered by all constructors and provided on any type of MR system. This single voxel J-resolved spectroscopy has been mainly studied on clinical system [9-11] and has shown its ability to discriminate of coupled system *in vivo*. Spatially distributed J-resolved sequences have also been proposed both for human [12, 13] and small animal applications [14, 15]. Another localized 2D MRS sequence which has been proposed for *in vivo* application and which comes from the first and most popular high resolution two-dimensional experiment COSY is the Localized Correlation Spectroscopy (LCOSY) [10, 16]. This sequence enables detection of coherence transfer echo formed by scalar-coupled metabolites which appear as cross-peaks in the 2D spectrum. These cross-peaks are metabolite specific and allow discriminating them in the spectra. By introducing a

constant-time (tc) in the LCOSY sequence, a scalar-coupling dependence is created allowing an increase of intensity of the cross-peak (in theory twice than LCOSY)[17, 18]. This sequence is called Localized Constant Time COSY (LCTCOSY).

The main purpose in *in vivo* MRS is to quantify metabolite and biochemical compounds contribution directly related to their concentrations. Quantification process includes the identification and signal measurement of the different biochemical components. This can be accomplished in the frequency or time domain [4]. Several quantification methods exist for 1D MRS, from advanced peak integration - to model based fitting methods [3] which uses a metabolite basis set as prior knowledge. In contrast, few methods of quantification have been proposed for 2D MRS. The most known and recently improved is ProFit [19-21] which has been developed for JPRESS quantification [99]. For COSY-type sequence, solutions have been proposed for high resolution MRS [19, 20]. For *in vivo* applications, to our knowledge, quantification has consisted in the peak volume integration, a method inherited from high resolution NMR[100]. No specific development has been dedicated to whole metabolite quantification for correlation spectroscopy compared to what has recently been done for JPRESS.

The aim of this study is to analyze 2D MRS sequences in terms of implementation and performance of the quantification process when employing a fitting method based on a linear combination of metabolite signals. We evaluate, for two major types of 2D experiment, namely Correlation and J-resolved spectroscopy, important characteristics involved in the quantification process such as impact of the relaxation weighting function, Cramér-Rao variance bounds (CRB) and fitting strategy. Indeed, besides the contributions of the metabolites, transverse relaxation parameters play an important role in quantitative MRS. They are always involved in 2D MRS signal equations and the study of these relaxation time weightings is important for further use of *in vivo* quantitative 2D NMR spectroscopy [2,3]. This implies to define a parameterized function that best depicts the acquired signal. We study the measurement of transverse relaxation parameters (metabolite T_2 and T_{2inh} due to the residual macroscopic magnetic field inhomogeneities). Three 2D MRS sequences (Localized Constant Time COSY, LCTCOSY, Localized COSY, LCOSY and JPRESS) are studied at two field strength (4.7 and 7 T) through *in vitro* situations and model simulations. From these experiments we inspect 2D MRS sequences for quantification purpose and propose the first 2D LCOSY fitting through a whole metabolite approach.

2 Material and method

2.1 2D localized MRS Sequences

Figure 1 shows the three localized 2D MRS sequences studied in this work: JPRESS, LCOSY and LCTCOSY. J-PRESS sequence has been implemented from an original PRESS sequence: the indirect dimension is obtained by incrementing the echo time of the sequence. The LCOSY and LCTCOSY were implemented according to [16] and [21] respectively. Compared to JPRESS, the last refocusing pulse is replaced by a 90° RF pulse associated to gradient for N-type coherence transfer. These two correlation sequences lead to phase modulation of the peak in the 2D spectra. LCTCOSY is a constant time version of LCOSY allowing a better detection of coupled metabolites [22].

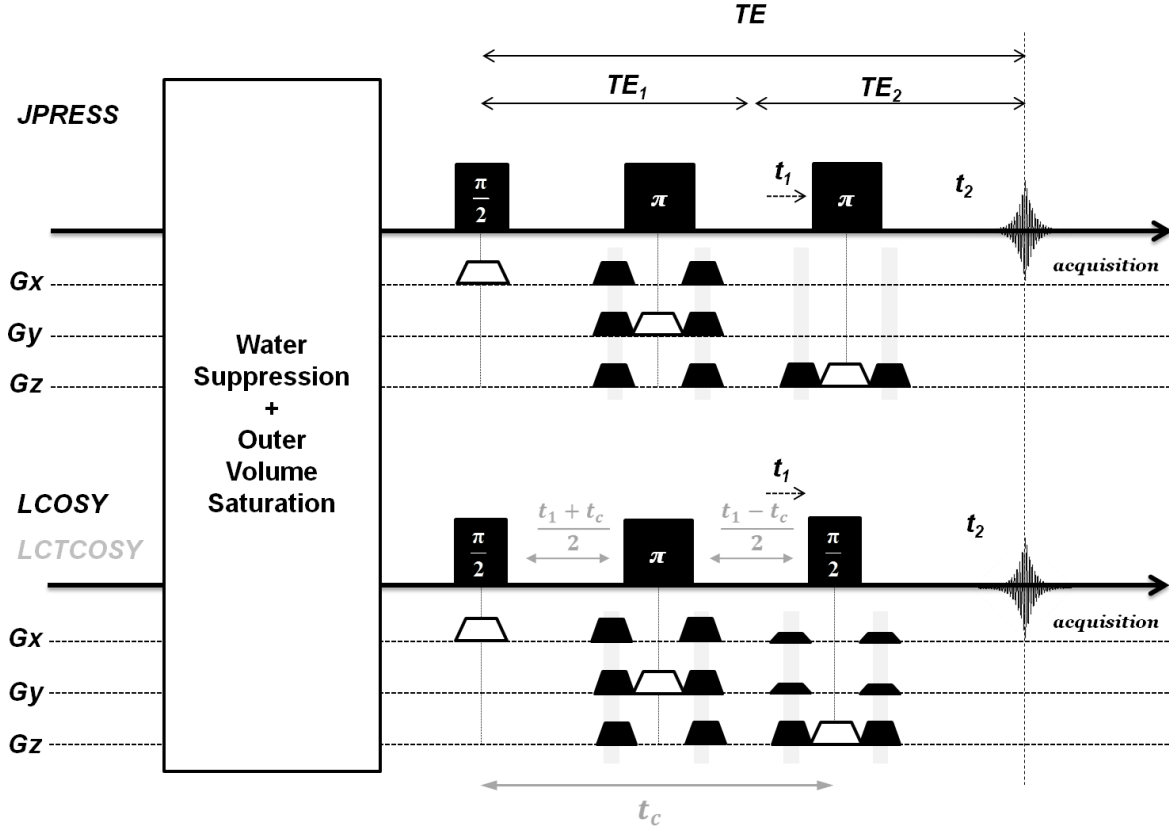


Figure 38: 2D MRS sequences developed based on three selective pulse scheme and used for this study. (Up) JPRESS 2D MRS sequence: the standard PRESS scheme is conserved while the Echo Time (TE) is incremented at each t_1 resulting in a J-modulation expression along the indirect dimension. (Down) Localized Correlation Spectroscopy (LCOSY) and Localized Constant Time Correlation Spectroscopy (LCTCOSY): The scheme is modified by replacing last pulse by a 90° together with a gradient which gives access to N-type coherence transfer pathway. The increments (in grey) for LCTCOSY are situated on both sides of the 180° pulse while LCOSY has a simple increment (in black) after the second pulse. By playing on the t_c constant in the LCTCOSY scheme, it is possible to target certain scalar coupling expression

2.2 Model functions, Quantification Procedure and Fisher matrix formalism

Like most of the quantification methods dedicated to 1D *in vivo* spectroscopy or like Profit for localized J-resolved signals [23], the studied quantification approach models the experimental data as a linear combination of modified metabolite basis signals. To this end, for each of the three studied 2D MRS sequence (JPRESS, LCOSY, LCTCOSY), a 2D MRS signal model has been defined.

2D MRS signal has been expressed as the linear contribution of each metabolite 2D signal with weight depending on their concentration (linear amplitude parameter), and on nonlinear parameters (frequency shift $\Delta\omega$, relaxation terms T_{2inh} , T_{2m} and zero-order phase ϕ_0), as described in equation (1).

$$\widehat{S}_{2D}(t_1, t_2) = \sum_m c_m \hat{x}_m(t_1, t_2) R_m(t_1, t_2, T_{2inh}, T_{2m}) f_m(t_1, t_2, \Delta\omega_m, \phi_0). \quad (1)$$

Here, the metabolite signals $\hat{x}_m(t_1, t_2)$ are obtained using SPINACH 1.4 library [24] and served as prior knowledge. The function f_m corresponds to the complex sinusoid adjustment

of the frequency shift $\frac{\Delta\omega_m}{2\pi}$ for each the metabolite signal of the basis set compared to the acquired signal and of the zero-order phase ϕ_0 . The main difference between the three sequences, besides the metabolite signal $\hat{x}_m(t_1, t_2)$, lies in the relaxation weighting functions R_m . These time domain models integrate one of the salient specificity of in vivo MRS experiment which is the signal envelop due to an inhomogeneous B0 field [25, 26]. For these three sequences which handle Hahn-type echo, dephasing due to ΔB_0 (inhomogeneous static field) is rephased at the maximum of the echo leading to specific time domain ridges [25, 26]. For all the sequences, transverse relaxation, in the direct dimension is related to the 'apparent' spin-spin relaxation time T_2 [27] and T_{2inh} , the relaxation caused by magnetic field *inhomogeneities* ΔB_0 . In the proposed models, a homogeneous Lorentzian line broadening is related to the T_2 weighting and Gaussian envelop describes signal decay due to the inhomogeneous ΔB_0 , as already used in other studies [28, 29]. The general expression used for the weighting function related to the relaxation is expressed with:

$$R_m = \exp\left(-\frac{t}{T_{2m}}\right) \exp\left(-\frac{|t_2 - t_1|^2}{4\ln 2 (T_{2inh})^2}\right). \quad ?)$$

Where $t = t_2 + t_1 + TE1$, for the LCOSY and JPRESS sequences and $t_1 = t_2 + t_c$. For the L-CTCOSY. Note that in this latter case, the signal decay in the indirect dimension is independent of T_2 and is linked solely to the field inhomogeneity at the end of the t_c duration [30].

In all these expressions, one specific transverse relaxation time T_{2m} is set for each metabolite spin system and a unique T_{2inh} is employed assuming that all the molecules within the voxel of interest experiment the same field homogeneity. These hypotheses have to be reviewed when micro-environment and different T_{2s} within the molecule are worth considering [31, 32].

In practice, as described later in this section, the estimation of the T_{2inh} requires a prior knowledge and initialization steps during which T_{2inh} is allowed to be slightly (within 10% of variation) different depending on the metabolite.

A nonlinear least-square minimization routine based on the Levenberg Marquardt algorithm is used to obtain parameters which best fit the acquired 2D signal. The whole quantification procedure was implemented in MATLAB v7.13 (MathWorks, Natick, MA, USA) and makes extensive use of the lsqnonlin function available in the Matlab optimization toolbox. The function solves nonlinear fitting problems and enables to define a set of lower and upper bounds (later called parameter bounds) on the parameters to estimate. The implementation includes analytic expression of the jacobian matrix allowing a correct and faster convergence of the fit compared to numerical computation. It also includes the possibility to choose to either estimate parameters or fix parameters to a defined value. Due to the correlation between parameters (see Results 3.1), a quantification strategy with several steps involving

minimization needs to be designed. We describe here the strategy developed to fit LCOSY spectrum with six main steps. At each step, the initial values of the parameters to be estimated are set to the values found in the previous step. The strategy proposed with the various steps involved is depicted **Figure 39**. Each time, the passage to the next step is conditioned by the convergence of the fit which can be achieved by starting again the fit with an increased number of iterations and/or by gradually relaxing tolerance-related parameters. The computation time for fitting a LCOSY spectrum varies from 5 minutes to 30 minutes depending on the number of metabolite parameters to fit.

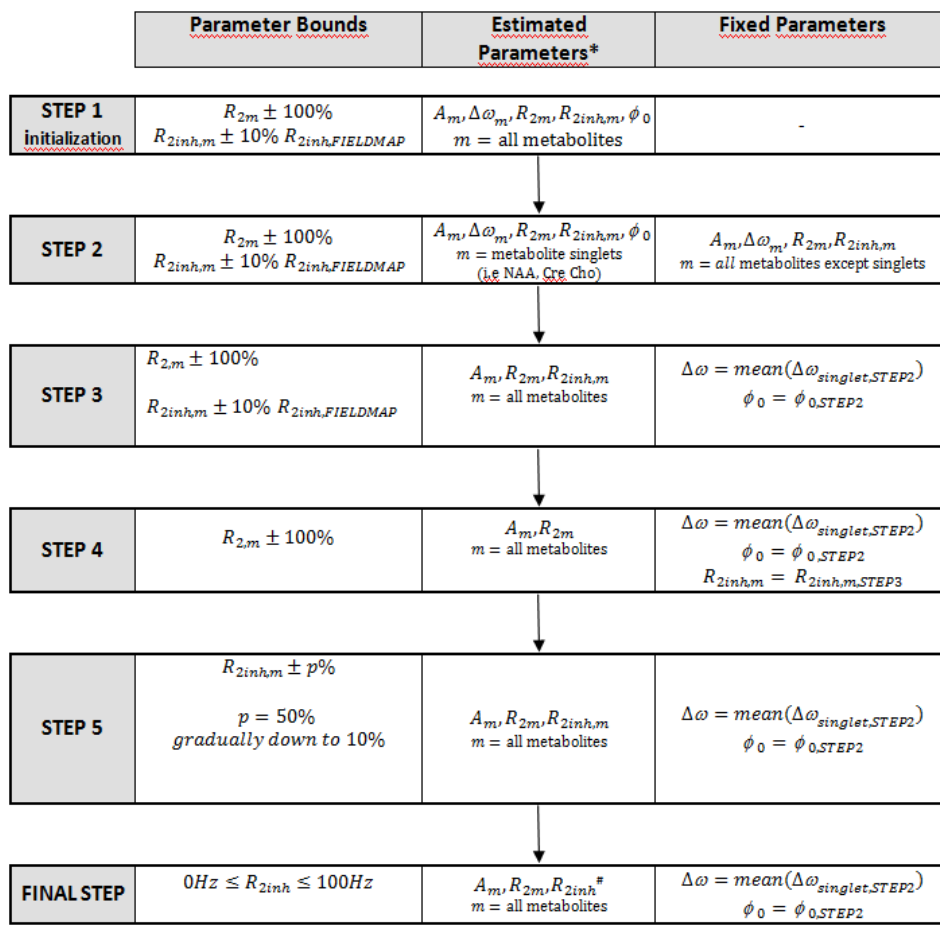


Figure 39: Principle of the fit strategy for L-COSY spectrum quantification, aiming at estimating the parameters of model function given in equation (1) and (2). At each step, a nonlinear least square estimation of some parameters is computed and the initial values of the parameters to be estimated are set to the values found in the previous step.

The quality of the fitting results were assessed using a fit quality measurement Q , already used in 1D NMR quantitation [33], defined as the standard deviation of the frequency domain residual between 0.4 and 4 ppm (in both dimension for correlation spectroscopy) divided by the standard deviation for the spectral noise. For the proposed models, we have computed the Fisher information matrix using the analytical Jacobian matrix (first-order partial derivatives of the model function with respect to the model parameter) and its transpose. The inverse Fisher matrix is taken as the covariance matrix of parameter errors and in the diagonal are found the Cramér-Rao Lower Bounds (CRBs) on the parameters [34]. These

bounds give information about the minimal achievable error made on the concentration estimation using our models and prior knowledge.

2.3 MR protocol

In order to validate the proposed relaxation model functions for each 2D MRS sequence and to demonstrate the relevance of using, in the fitting procedure, the T_{2inh} measured by B_0 field mapping as a prior knowledge, acquisitions were performed on metabolite solutions and metabolite singlet were fitted (Study 1). Different conditions for the contribution in T_2 and T_{2inh} were studied by performing the acquisition at two field strengths and on different media. Experiments were performed at 4.7T and 7T on Bruker BioSpec system using volume coil for emission and surface coil for reception. An admixture phantom of 9 metabolites (50mM concentration for NAA, Creatine, myo Inositol, Lactate, Taurine, GABA, 15mM for Choline and 80mM for Glutamate, Glutamine) in low melting 2% agarose gel and individual solutions (50mM) of NAA, Creatine (CRE), Choline (CHO) and Lactate were used for the different experiments. Samples were inserted at the center of the magnet. A scout image was acquired for voxel positioning and a PRESS sequence without water suppression was used to estimate shim quality. Then an automatic 1st and 2d order shim adjustment was used on the voxel. The Bruker Mapshim macro was applied to perform the shimming protocol based on the FieldMap sequence. This B_0 Field mapping is obtained from a double gradient echo with phase difference calculation and subsequent unwrapping was applied. Parameters used were: echo time of 1.50ms, repetition time of 20ms, isotropic spatial resolution of 0.781 mm/px with a matrix size of 64x64x64 points. A B_0 field map was acquired for shim correction and a final one was acquired just after to measure residual inhomogeneities ΔB_0 in the voxel. T_{2inh} was deduced by integration of the corresponding voxel in the FieldMap: $\int_{\text{voxel}} \gamma \Delta B_0 = \frac{1}{T_{2inh}}$. 2D MRS (JPRESS, LCTCOSY, LCOSY) acquisitions were performed three times using the same acquisitions parameters (see table 1 for acquisition parameter details). The samplings in the indirect dimension were adjusted in order to result in the same acquisition time for the three sequences. In study 1, T_2 and T_{2inh} values for the three different sequences were estimated on singlets. The fitting was performed using a single singlet in the metabolite basis set, and only a single estimation step with the T_{2inh} measured by B_0 field map used as an initial value for LCT-COSY et JPRESS and fixed for LCOSY. In the study 2, the proposed fitting procedure was applied for the fitting of coupled spin system, i.e. the lactate solution and for the admixture phantom (MIX).

Parameter	L-COSY		L-CTCOSY		JPRESS	
B_0 (T)	4.7	7	4.7	7	4.7	7
Constant Time /TE min (ms)	20	20	70/20	70/20	20	20
TR solution/phantom (ms)	6000/2500	8000/2500	6000/2500	8000/2500	6000/2500	8000/2500
Fe1/Fe2 (Hz)	2000/4000	1500/3000	2000/4000	1500/3000	2000/4000	1500/3000
n1/n2 (pts)	256/2048	128/2048	256/2048	128/2048	256/2058	128/2048
NA	1	1	1	1	1	1

Table 1: Parameters used for the 2MRS acquisitions at 4.7 and 7T. Acquisition times were about 10 min for the phantom and 12 min for solutions and performed three times. TR was chosen to avoid T1 relaxation weighing.

3 Results

3.1 Study 1: Relaxation parameter estimation and field in homogeneity measurement

The data acquired in solution were preprocessed by HLSVD filtering [35] from jMRUI software, to remove residual water and only retain singlets for the analysis. Using the fitting algorithm, relaxation times for the three sequences were estimated. Table 1 summarizes the quantitative T_2 and T_{2inh} relaxation times found for the NAA, Choline and Creatine singlets in individual solutions (Table 2a) and for the phantom (Table 2b). For the three sequences, the estimated apparent T_2 relaxation times decreased with the increasing field and were consistent with each other. Coefficients of variation were calculated as the ratio of standard deviation of the values over the mean value and showed small dispersion. T_2 of Creatine and NAA in solution were consistent with those obtained at 9.4T [36]. The T_2 values of Cho are close to the T_2 values of NAA and longer than Creatine. This tendency is observed *in vivo* [37, 38]. The fitted or deduced T_{2inh} from LCT-COSY and JPRESS respectively were consistent with its measurement using B0 field map. This last measurement enabled to guide the T_2 and T_{2inh} component in the LCOSY according to the proposed fitting strategy. Figure 2 displays frequency-domain contours and time domain plots of the acquired data, model and residual for the NAA singlet LCOSY spectrum. The fit quality Q was 1.1. It is slightly greater than the unity because there is some residual signal attributed to not fully modeled lineshape induced by B0 instabilities such as eddy current. Here the estimated relaxation times were fitted with a two dimensional complex time domain model, handling the 'phase twist' line shape of LCOSY spectrum. We have checked (results not shown) that one dimensional Lorentzian fittings in the two dimension independently, after peak extraction, and use of the relation $\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_{2inh}}$ result in estimated relaxation values consistent with the 2D fitting approach.

a)

SOLUTION		JPRESS				LCOSY				LCTCOSY				FieldMAP	
		4.7 T		7 T		4.7 T		7 T		4.7 T		7 T		4.7 T	7 T
T2inh (ms)	NAA	71	7%	108	5%					99	6%	131	5%	101	127
	CRE	91	5%	157	5%					86	8%	113	4%	100	177
	CHO	130	6%	97	4%					112	2%	80	4%	122	93
T2 (ms)	NAA	854	4%	327	7%	671	4%	457	8%	754	5%	625	4%		
	CRE	767	8%	388	9%	783	6%	477	5%	689	8%	438	5%		
	CHO	684	5%	575	7%	704	6%	512	5%	1161	6%	674	4%		

b)

MIX		JPRESS				LCOSY				LCTCOSY				FieldMAP	
		4.7 T		7 T		4.7 T		7 T		4.7 T		7 T		4.7 T	7 T
T2inh (ms)	NAA	210	7%	124	5%					314	4%	120	7%		
	CRE	218	7%	81	7%					272	7%	80	6%	244	115
	CHO	247	6%	84	8%					238	8%	90	8%		
T2 (ms)	NAA	58	6%	44	6%	54	7%	43	4%	48	8%	41	4%		
	CRE	52	7%	41	7%	57	6%	47	5%	54	5%	42	5%		
	CHO	108	5%	93	8%	121	5%	103	4%	90	9%	78	5%		

Table 2: Relaxation time measurements (mean and relative standard deviation) performed on metabolite singlet in solution and in agarose phantom for the three studied 2D MRS sequences and T2inh derived from the B0 field map. Black background indicates relaxation times which are directly fitted on the indirect dimension or measured (T2inh for LCT-COSY and B0 field map, T2 for JPRESS) and white background indicates relaxation times that are expressed in an exponential where both T2 and T2inh are involved (i.e. in the direct dimension of all the sequence and in both dimension for LCOSY).

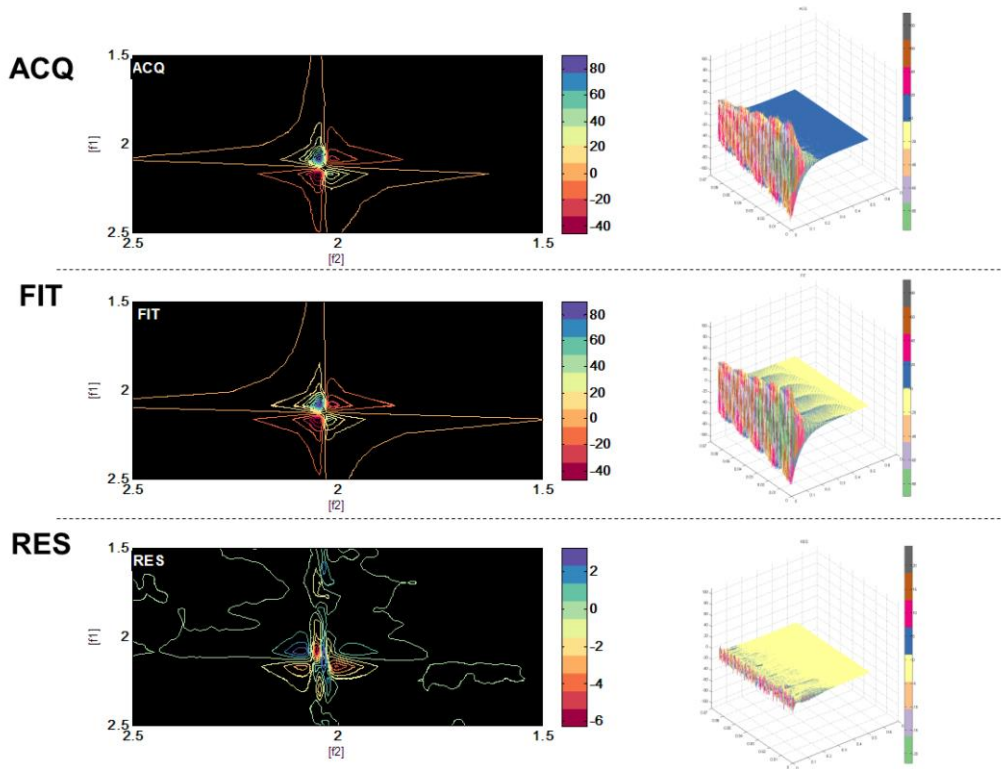


Figure 40: LCTCOSY spectrum (left column) of N-Acetyl Aspartate singlet (2ppm) at 4.7T associated to its time domain signal (right column). a): Acquired spectrum after HLSVD filtering. b): Resulting estimated spectrum obtained by 2D MRS fitting procedure with only one singlet in the basis set c): Residual signal obtained by subtraction of original complex signal and fitted one. Spectra are represented as contour plot of the real part. Phase and shape of the original spectra is preserved in the fitting.

It can be seen from the study of a simple case, through the consideration of the correlation matrix, that the handling of the relative value of T_{2inh} and T_2 impact the correlation coefficients and thus the convergence and fitting behavior. We computed the correlation matrix displayed in Figure 3 for a model function of three LCOSY singlets with same amplitudes, resonating at 4 ppm, 3.95 ppm and 3.8 ppm ($B_0 = 7T$), and in four cases: especially the case where T_2 is small and inferior to T_{2inh} (i.e. in the agarose gel), the case where T_{2inh} is lower than T_2 (i.e. the *in vivo* case), and the case where both T_2 and T_{2inh} are long (i.e. the *in vitro* case). The correlation matrix shows clearly different distribution according these cases. The correlation coefficients between amplitude parameters increase, when T_{2inh} becomes short. When T_{2inh} is long (i.e. very good field homogeneity), the correlation coefficient between R_2 (i.e. $\frac{1}{T_2}$) and R_{2inh} (i.e. $\frac{1}{T_{2inh}}$) is rather strong. In any case, the correlation coefficients between the amplitude parameter and corresponding R_2 parameter are strong.

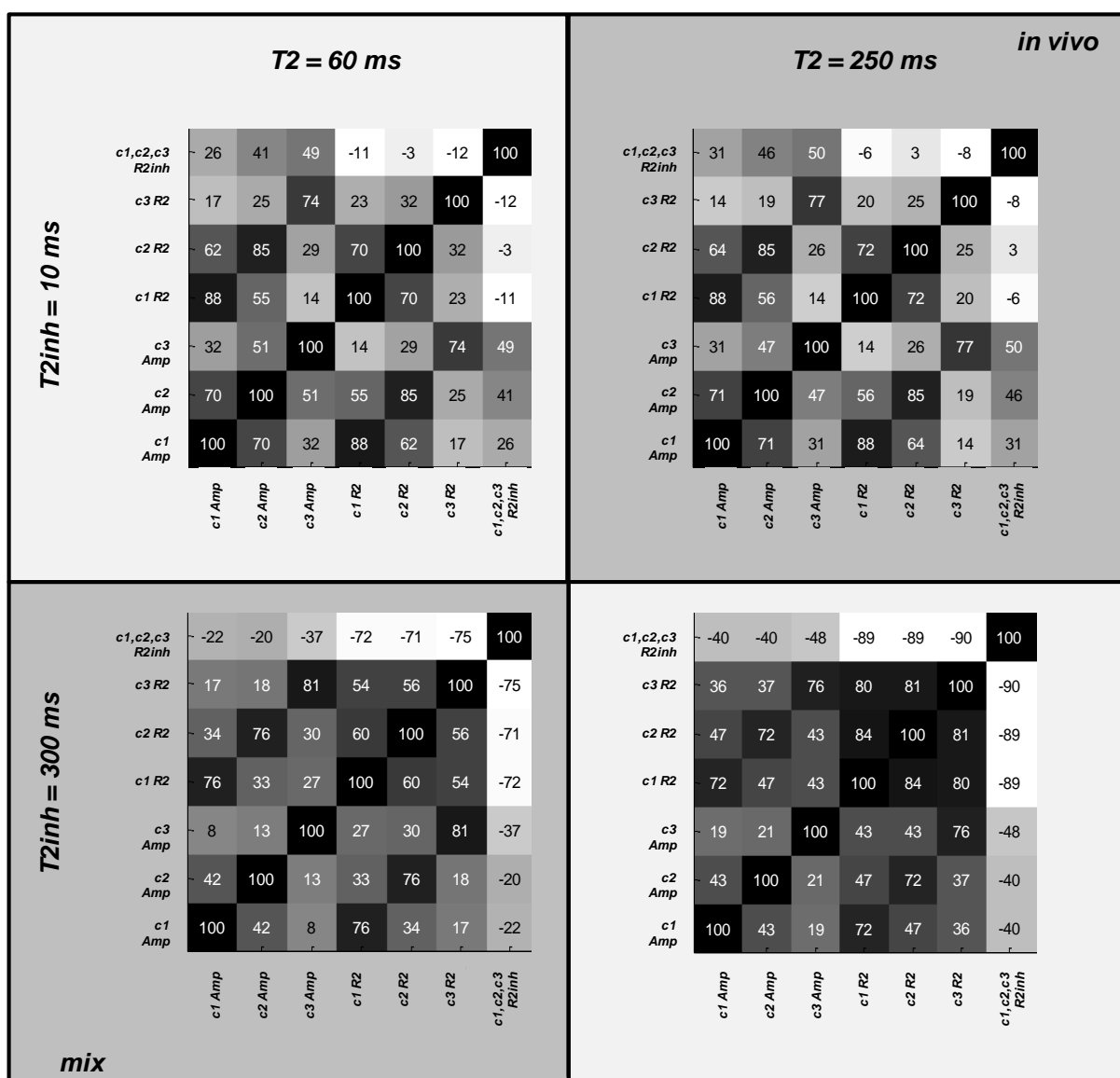


Figure 41: Correlation matrix computed for LCOSY using three singlets (c1,c2,c3) with same amplitudes and resonating at 4ppm, 3.95ppm and 3.8ppm to investigate effect of relative value of T_2 and T_{2inh} (or equivalently R_2 and R_{2inh}). Correlation coefficients between amplitude parameter (Amp) increase when T_{2inh} becomes short (top line). When T_{2inh} is longer (bottom line) as in metabolite solutions and metabolite admixture, the correlation coefficients between parameter amplitude are weaker and a strong negative correlation coefficient is found between T_2 and T_{2inh} parameters changing the challenge to tackle during the fitting procedure. In any case the correlation coefficient between the amplitude parameter (Amp) and R_2 parameter are strong.

3.2 Study 2: Coupled spin system estimation using a simulated metabolite 2D COSY signal

Figure 4 shows the fitting of the lactate LCOSY spectrum using a prior knowledge lactate signal simulated using Spinach with the acquisition timing parameters and hard pulses for spin excitation and assuming a single T_2 for the whole metabolite spin system. We acquired the data in the case where chemical shift artifact occurs with last selective pulse having a

bandwidth of 1500Hz and a second case where this artifact is practically null with the last pulse bandwidth of 2000Hz. Figure 5 shows fitting results obtained for the LCOSY spectrum of the admixture of metabolite in agarose gel using the quantification method and strategy described. The fit quality measurement Q goes down from 1.3 to 1.02 between the case with the chemical shift artifact and the case without the chemical shift artifact.

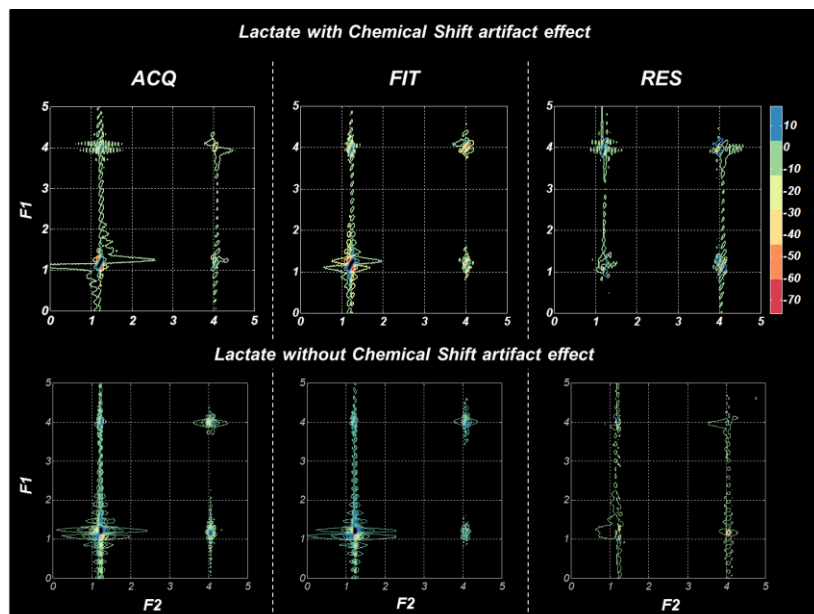


Figure 42: Quantification results for the LCOSY Lactate spectrum, acquired at 4.7T, studied through the chemical shift artifact using different RF selective pulse bandwidth. Spectra (acquisition ACQ, FIT and residual spectrum RES) are represented as contour plot of the real part with the same scale. (Up) Cross peak fitting are mainly affected by the chemical shift artifact (RF pulse bandwidth of 1500 Hz). (Down) in the case where the chemical shift artifact is almost away, the whole spectrum is fitted and diagonal and cross peaks show the same shape and phase as in the acquired data.

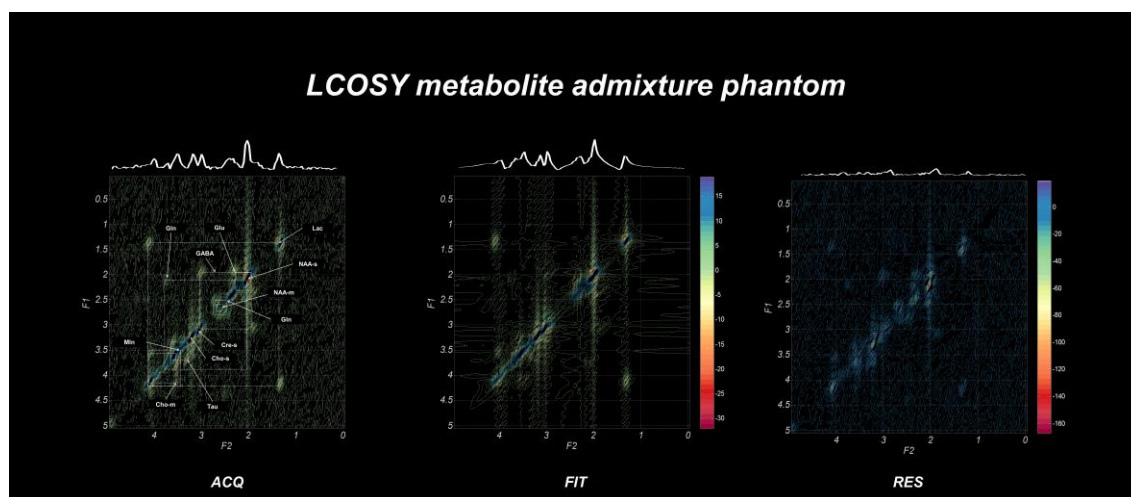


Figure 43: Quantification results for the LCOSY spectrum of a metabolite admixture in agarose gel. Spectra (acquisition ACQ, FIT and residual spectrum RES) are represented as contour plot of the real part, additionally on top of the 2D dataset is displayed the magnitude spectrum projection in the F2 dimension. The contour plots are: (Left) Acquired LCOSY spectrum (ACQ) of an admixture at 4.7T with metabolite assignment, (Middle) Fitted spectrum using the described algorithm and strategy (Right) Residual spectrum. Main metabolites are fitted in the spectrum and concentration found was in accordance with the admixture composition. The $T_{2\rho}$ found was in agreement with the FieldMap derived measurement.

3.3 2D MRS Sequence analysis using Cramér Rao Lower Bounds

A synthetic mixture of metabolites was simulated at 7T using SPINACH [24] for the three 2D MRS sequences and weighted using respective model function at typical *in vivo* concentration and typical value of T_2 and T_{2inh} . These simulations inherently take into account the loss of signal of correlation spectroscopy compared to JPRESS. For the correlation spectroscopy sequence, the sampling was 4kHzx4kHz with a matrix 256x2048 and number of accumulation NA=1. For the JPRESS sequence, a matrix of 32x2048 was used and four samplings were tested for the 32 steps in the indirect dimension, varying the TEmax and TE step increments but always so that the scanning time for each of the simulated sequence was the same as for the correlation spectroscopy sequences. The noise level was set so that the SNR of time domain NAA singlet in JPRESS was equal to 11. Assuming the parameters used to simulate the signal were the true parameters, we computed the corresponding CRBs. For these given scenari, taking into account the values of the model function parameters as well as the sampling in the indirect dimension, we displayed the CRBs obtained on the concentration parameter (i.e. amplitude parameter c in the model function). It can be seen that, theoretically, some substantial difference in the CRBs can occur depending on the 2D MR spectroscopy sequence used. The sampling strategy in JPRESS influences the CRBs results with different optimal sampling according to the targeted metabolite. While JPRESS showed the shortest CRBs for singlets, Lactate and Glutamate, coupled metabolite such as glutamine (Gln) or GABA or taurine showed lower CRBs in LCOSY than in JPRESS despite a theoretical loss of signal due to the sequence.

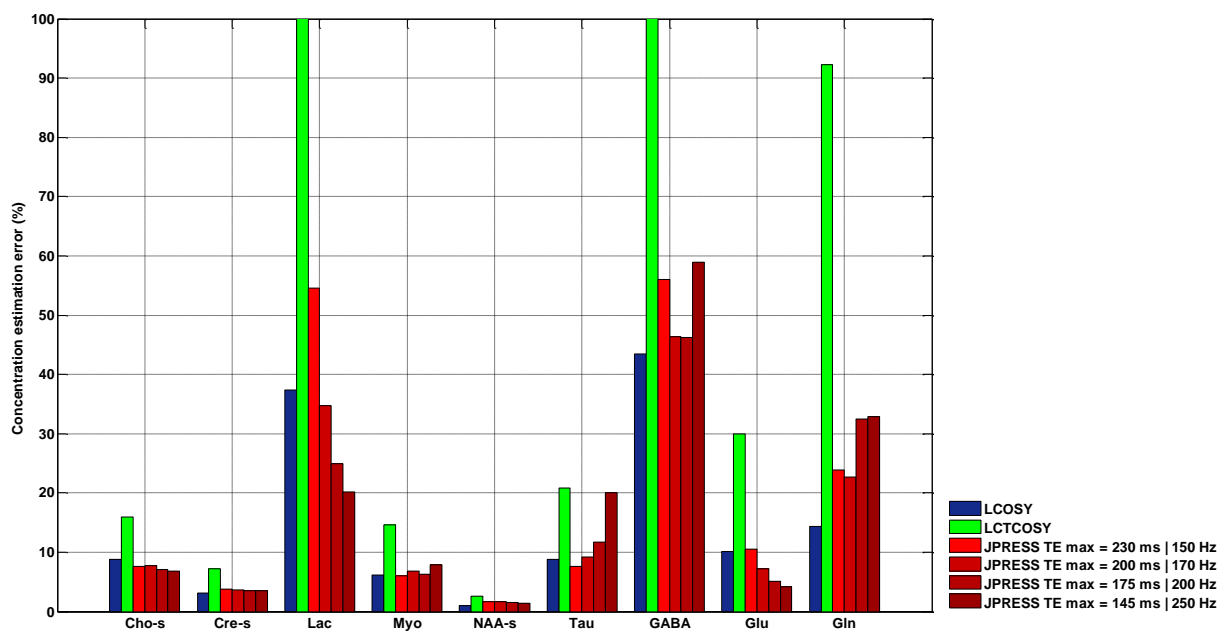


Figure 44 : Cramer Rao Lower bounds on concentration parameter calculated for the studied 2D MRS sequences at 7T and for *in vivo* condition (mean T_2 was 200 ms, T_{2inh} 10ms, concentration from [1]) and for the following parameters: for correlation spectroscopy matrix 256x2048, 4kHzx4kHz, minTE=16ms, NA=1, for JPRESS matrix 32x2048, NA=8, minTE=16ms Fe2=4kHz and four different sampling scheme in the

indirect dimension. The noise level was set so that the SNR of time domain NAA singlet in JPRESS was equal to 11. LCTCOSY simulated with $t_c=70\text{ms}$, (in light grey) is penalized by T_2 weighting in $\exp(-t_c/T_2)$ for coupled system (such as Gln, GABA). LCOSY (in black) shows lower bounds for Gln, GABA, Tau compared to JPRESS (dark grey) for the chosen sampling schemes.

4 Discussion

This study tackles the quantification of 2D MRS signals according to a linear combination of metabolite signal as already proposed for *in vivo* 1D MRS. To our knowledge, the recent development and studies have only handled for 2D JPRESS [28, 29] quantification and correlation spectroscopy had never been considered within the framework of a whole metabolite quantification approach.

In a similar approach to 1D MRS quantification, a basis set constituted by metabolite signal was simulated prior to the fitting process and their relative amplitudes, corresponding relaxation time constant and frequency shifts are fitted. The study of the correlation matrix showed that the amplitude parameters and the relaxation parameter are strongly correlated when field inhomogeneities are pronounced that is to say in *in vivo* conditions where $T_{2inh} \ll T_2$. According to the relaxation time, and resulting correlation matrix, the way to handle the fitting is more or less complex. This implementation may vary depending on whether the T_2 and T_{2inh} are long or short and their relative value. For a given set of parameter and a given model function, one can get insight from the correlation coefficient existing between two parameters. Indeed, when the parameter correlation coefficient is close to 1, convergence issues may arise: several sets of parameter values can produce the same results (non-identifiable parameters) or different solutions can be obtained using different initial values (non-uniqueness of the solution). To cope with these difficulties, the fitting procedure plays with bounds and prior knowledge along several steps invoking nonlinear least square algorithm to guide the search for a solution that fits the data and has a physical meaning. For 2D MRS, the fitting problem is also a separable nonlinear least squares fitting problem. Therefore, robustness and efficiency may be improved by determining, using least square approach and at each function evaluation of the iteration, the linear parameter amplitude as done in 1D MRS [6, 33]. The CRBs calculations in this work employed model functions which did not include penalization term nor regularization process to be able to get easily an analytic expression of the Jacobian matrix. Fitting was performed on the complex data, avoiding the loss of spectral resolution inherent to the magnitude mode. For example, in the LCOSY sequence, the use of gradient pulses introduces mixed lineshape in the 2D NMR spectrum, which complicates its analysis when employing peak integration approach. A parametric model fitting approach increases, in a way, the resolving power of LCOSY.

In Profit (revisited) for 2D J resolved spectroscopy [29], a model free line shape handling has been proposed. In contrast, the current study handles parametrically the signal envelop so as to describe physical properties related to the relaxation. We have shown experimentally that T_{2inh} values fitted using the proposed model function were in good

concordance, for singlet, with the measure deduced from the B0 field map. The B0 field map method is originally used for shimming and this result suggests using the derived T_{2inh} measurement as prior knowledge in the quantification process. We propose to estimate this relaxation parameter through a Gaussian function and to help the fitting by giving starting value and bounds set up according to this prior knowledge. T_2 relaxation time measurements for the singlet in solution were in agreement with previous published values [39] and showed a decrease with increasing magnetic field strength for the three sequences. In the agarose phantom, drastically shorter T_2 were found. This agarose based phantom results in metabolite T_2^* similar to *in vivo* T_2^* values but the distribution between the T_2 and T_{2inh} is shifted the other way around with T_2 values lower than T_{2inh} .

The example of the quantification of the LCOSY Lactate illustrates, for 2D localized spectra, the disadvantages linked to the use of selective pulse as has been already encountered for 1D MRS localization method such as PRESS [40]. This is particularly significant when chemical shifts between coupled spins are comparable to excitation bandwidth. In the case of correlation spectroscopy, it can be shown, with a four compartment approach that the cross peaks are the first impacted by the partial excitation of the spin system, as coherence transfer could not occur. As a result, the cross correlation pattern is more complicated leading to more fitting issues. A recently published semi-adiabatically localized COSY sequence has been proposed to solve this problem [41].

The CRBs, computed with parameter values typical of *in vivo* conditions, and for the chosen sampling of the indirect dimension, were found to be lower, in the case of the given acquisition parameters and model parameters, for some multiplets such as glutamine in LCOSY spectrum than in JPRESS spectrum despite an SNR reduction per unit of acquisition time. This result can be intuited by considering the improved spectral dispersion of metabolite in correlation spectroscopy compared to J resolved spectrum. However, it is noteworthy that the sampling strategy matters especially for JPRESS, and, in the present paper, the search for the optimal sampling was not the focus. Thanks to the proposed derived model function for each 2D experiment, specific optimization of the sampling of the indirect dimension could be performed as already proposed for conventional 2D J resolved PRESS [34]. It should be kept in mind, though, that these CRBs projections are only valid if the estimates are unbiased, which means if the model function perfectly depicts the signal. Theoretically [10], JPRESS shows higher SNR compared to LCOSY sequence, as this sequence retains only 50% net signal from the localized volume due to the N-type echo selection. The SNR ratio of two between these two sequences was retrieved in the simulated spectra used to calculate the CRBs. However, in practice the effective selected volume linked to the used RF pulse profile is not equivalent, with for our case, a bigger volume selected (1.21 times bigger) for LCOSY than for JPRESS. LCTCOSY shows higher CRBs, due to the specificity of this sequence for which signal intensities are weighted by $\exp(-tc/T_2)$. For a given acquisition time, this weighting prevails over the improvement in spectral resolution brought by the use of a constant time, when using long constant time (>50ms) and metabolite T_2 are short as it is the case *in vivo*. In theory, for the LCT-COSY, the optimal constant time, enabling optimal multiplet detection, is a multiple of $1/2 J$. For a value of $J_{HH}=7\text{Hz}$ which is the mean value of observable brain metabolite J coupling, this constant time is about 70ms. This calculation could be inoperative and needs to be tuned through experimentation and simulation as reported by Watanabe et al. [22] in which an optimal constant time $tc=110\text{ms}$ was found to resolve GABA C2H from Glutamate C4H. CRBs were also calculated using different

relaxation weighting (results not shown) and the same t_c . They showed a global decrease of Gln, Glu and GABA's CRBs with increasing $T2_{inh}$. When using the same $T2_{inh}$ and varying t_c , CRBs could decrease up to 12% for GABA. This underlines the importance of relaxation weighting linked to the choice of the constant time in this sequence.

In conclusion, this work studied the generalization of a whole metabolite quantification method for 2D MRS signal. We have emphasized interesting aspects related to 2D MR spectroscopic signal quantification such as prior knowledge on field homogeneity, interdependency of parameters and metabolite pattern resolution impacting error estimation. Quantitative LCOSY employing fitting algorithm has been demonstrated and offers interesting features for metabolite deconvolution. For brain in vivo applications, the handling of macromolecules has caused real difficulties in short echo time quantification [31, 42] and also in JPRESS quantification [29], but the recent publication using LCOSY in the brain did not mention it as a concern [43] and constitutes a topic to investigate in the quantification framework. The proposed fitting algorithm, after specific adjustments should also benefit to correlation spectroscopy applications on other tissues involving interesting chemical compounds such as lipids [21, 44, 45]. Finally, quantitative 2D MRS needs further methodological improvements to compete with 1D quantitative short echo time MRS, which include algorithmic advances to reach robustness in the complex optimization problem which invokes numerous parameterizations as well as faster acquisition scheme like recent advances exploiting the sparsity of the 2D MR spectra [46] or ultrafast scheme [47, 48].

5 Acknowledgement

This work was supported in part by an exploratory project funding (PEPS- INSIS 2013-2014) of the French National Center for Scientific Research (CNRS), and within the framework of the LABEX PRIMES (ANR-11-LABX-0063) of Université de Lyon, within the program "Investissements d'Avenir" (ANR-11-IDEX-0007) operated by the French National Research Agency (ANR).

1. Mlynarik, V., et al., *1H NMR spectroscopy of rat brain in vivo at 14.1Tesla: improvements in quantification of the neurochemical profile*. Journal of magnetic resonance (San Diego, Calif. : 1997), 2008. 194(2): p. 163-8.
2. Tkac, I., et al., *Highly resolved in vivo 1H NMR spectroscopy of the mouse brain at 9.4 T*. Magn Reson Med, 2004. 52(3): p. 478-84.
3. Ratiney, H., et al., *Time-domain semi-parametric estimation based on a metabolite basis set*. NMR Biomed, 2005. 18(1): p. 1-13.
4. Pouillet, J.-b., D.M. Sima, and S.V. Huffel, *MRS signal quantitation : A review of time- and frequency-domain methods*. Journal of Magnetic Resonance, 2008. 195(2): p. 134-144.
5. Provencher, S.W., *Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra*. Magn Reson Med, 1993. 30(6): p. 672-9.
6. Pouillet, J.B., et al., *An automated quantitation of short echo time MRS spectra in an open source software environment: AQSES*. NMR Biomed, 2007. 20(5): p. 493-504.

7. Meric, P., et al., *In vivo 2D magnetic resonance spectroscopy of small animals*. Magma, 2004. 17(3-6): p. 317-38.
8. Ryner, L.N., J.A. Sorenson, and M.A. Thomas, *Localized 2D J-resolved ^1H MR spectroscopy: strong coupling effects in vitro and in vivo*. Magn Reson Imaging, 1995. 13(6): p. 853-69.
9. Thomas, M.A., et al., *Localized 2D J-resolved ^1H MR spectroscopy of human brain tumors in vivo*. J Magn Reson Imaging, 1996. 6(3): p. 453-9.
10. Thomas, M.A., et al., *Evaluation of two-dimensional {L}-{COSY} and {JPRESS} using a 3 {T} {MRI} scanner: from phantoms to human brain in vivo*. NMR Biomed, 2003. 16(5): p. 245-251.
11. Schulte, R.F., et al., *Improved two-dimensional J-resolved spectroscopy*. NMR in biomedicine, 2006. 19(2): p. 264-70.
12. Adalsteinsson, E. and D.M. Spielman, *Spatially resolved two-dimensional spectroscopy*. Magn Reson Med, 1999. 41(1): p. 8-12.
13. Jensen, J.E., et al., *Two-dimensional, J-resolved spectroscopic imaging of GABA at 4 Tesla in the human brain*. Magn Reson Med, 2005. 54(4): p. 783-8.
14. Hiba, B., et al., *2D J-resolved spiral spectroscopic imaging at 7 T: application to mobile lipid mapping in a rat glioma*. Magn Reson Med, 2004. 52(3): p. 658-62.
15. von Kienlin, M., et al., *2D-spatial/2D-spectral spectroscopic imaging of intracerebral gliomas in rat brain*. Magn Reson Med, 2000. 43(2): p. 211-9.
16. Thomas, M.A., et al., *Localized two-dimensional shift correlated {MR} spectroscopy of human brain*. Magn Reson Med, 2001. 46(1): p. 58-67.
17. Wu, Z. and a. Bax, *Measurement of homonuclear proton couplings based on cross-peak nulling in CT-COSY*. Journal of magnetic resonance (San Diego, Calif. : 1997), 2001. 151(2): p. 242-52.
18. Girvin, M.E., *Increased Sensitivity of COSY Spectra by Use of Constant-Time t_1 Periods (CT COSY)*. Journal of Magnetic Resonance, Series A, 1994. 108(1): p. 99-102.
19. Chylla, R.A., B.F. Volkman, and J.L. Markley, *Practical model fitting approaches to the direct extraction of NMR parameters simultaneously from all dimensions of multidimensional NMR spectra*. J Biomol NMR, 1998. 12(2): p. 277-97.
20. Chylla, R.A., et al., *Deconvolution of two-dimensional NMR spectra by fast maximum likelihood reconstruction: application to quantitative metabolomics*. Anal Chem, 2011. 83(12): p. 4871-80.
21. Velan, S.S., et al., *Implementation and validation of localized constant-time correlated spectroscopy (LCT-COSY) on a clinical 3T MRI scanner for investigation of muscle metabolism*. J Magn Reson Imaging, 2007. 26(2): p. 410-7.
22. Watanabe, H., N. Takaya, and F. Mitsumori, *Simultaneous observation of glutamate, gamma-aminobutyric acid, and glutamine in human brain at 4.7 {T} using localized two-dimensional constant-time correlation spectroscopy*. NMR Biomed, 2008. 21(5): p. 518-526.
23. Schulte, R.F. and P. Boesiger, *ProFit: two-dimensional prior-knowledge fitting of J-resolved spectra*. NMR in biomedicine, 2006. 19(2): p. 255-63.
24. Hogben, H.J., et al., *Spinach--a software library for simulation of spin dynamics in large spin systems*. Journal of Magnetic Resonance 2011. 208(2): p. 179-94.

25. Ziegler, A., et al., *Optimization of Homonuclear Two-Dimensional Correlation Methods for in Vivo and ex Vivo NMR*. Journal of Magnetic Resonance, 1995. 107: p. 10-18.
26. Ernst, R.R., G. Bodenhausen, and A. Wokaun, *Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions*. 1991.
27. de Graaf, R.A., et al., *High magnetic field water and metabolite proton T1 and T2 relaxation in rat brain in vivo*. Magn Reson Med, 2006. 56(2): p. 386-94.
28. Chong, D.G., et al., *Two-dimensional linear-combination model fitting of magnetic resonance spectra to define the macromolecule baseline using FiTAID, a Fitting Tool for Arrays of Interrelated Datasets*. Magma. 24(3): p. 147-64.
29. Fuchs, A., et al., *ProFit revisited*. Magn Reson Med, 2013.
30. Keeler, J., *Understanding NMR Spectroscopy*. 2005: Wiley.
31. Ratiney, H., et al., *Semi-parametric time-domain quantification of HR-MAS data from prostate tissue*. NMR Biomed, 2010. 23(10): p. 1146-57.
32. de Graaf, R.A., G.M. Chowdhury, and K.L. Behar, *Quantification of high-resolution (1)H NMR spectra from rat brain extracts*. Anal Chem. 83(1): p. 216-24.
33. Wilson, M., et al., *A constrained least-squares approach to the automated quantitation of in vivo (1)H magnetic resonance spectroscopy data*. Magn Reson Med, 2011. 65(1): p. 1-12.
34. Bolliger, C.S., C. Boesch, and R. Kreis, *On the use of Cramér-Rao minimum variance bounds for the design of magnetic resonance spectroscopy experiments*. Neurolmage, 2013. 83: p. 1031-40.
35. Vanhamme, L., et al., *Fast Removal of Residual Water in Proton Spectra*. J Magn Reson, 1998. 132(2): p. 197-203.
36. Xin, L., et al., *Proton T2 relaxation time of J-coupled cerebral metabolites in rat brain at 9.4 T*. NMR Biomed, 2008. 21(4): p. 396-401.
37. Mlynarik, V., S. Gruber, and E. Moser, *Proton T (1) and T (2) relaxation times of human brain metabolites at 3 Tesla*. NMR Biomed, 2001. 14(5): p. 325-31.
38. Li, Y., et al., *Comparison of T(1) and T(2) metabolite relaxation times in glioma and normal brain at 3T*. J Magn Reson Imaging, 2008. 28(2): p. 342-50.
39. Cudalbu, C., et al. *Joint Annual Meeting of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine - European Society for Magnetic Resonance in Medicine : Scientific Meeting and Exhibition, Berlin, Germany, 21-25 May 2007*. 2007: ISMRM.
40. Maudsley, A.A., et al., *Numerical simulation of PRESS localized MR spectroscopy*. J Magn Reson, 2005. 173(1): p. 54-63.
41. Lin, M., A. Kumar, and S. Yang, *Two-dimensional semi-LASER correlation spectroscopy with well-maintained cross peaks*. Magn Reson Med, 2014. 72(1): p. 26-32.
42. Ratiney, H., et al., *Time-domain quantitation of 1H short echo-time signals: background accommodation*. Magma, 2004. 16(6): p. 284-96.
43. Verma, G., et al., *Implementation of two-dimensional L-COSY at 7 tesla: An investigation of reproducibility in human brain*. J Magn Reson Imaging, 2013.

44. Srikanthan, P., et al., *Characterization of Intra-myocellular Lipids using 2D Localized Correlated Spectroscopy and Abdominal Fat using MRI in Type 2 Diabetes*. Magn Reson Insights, 2012. 5: p. 29-36.
45. Prescott, A.P., et al., *Localized COSY and DQF-COSY 1H-MRS sequences for investigating human tibial bone marrow in vivo and initial application to patients with acute leukemia*. J Magn Reson Imaging, 2005. 22(4): p. 541-8.
46. Merhej, D., et al., *Fast multidimensional NMR spectroscopy for sparse spectra*. NMR Biomed, 2014. 27(6): p. 640-55.
47. Roussel, T., et al., *3D localized 2D ultrafast J-resolved magnetic resonance spectroscopy: in vitro study on a 7 T imaging system*. J Magn Reson, 2012. 215: p. 50-5.
48. Zhang, Z., et al., *Spatially encoded ultrafast high-resolution 2D homonuclear correlation spectroscopy in inhomogeneous fields*. J Magn Reson, 2013. 227: p. 39-45.

I. Éléments complémentaires

À travers cette étude, nous avons vu divers aspects liés au modèle de relaxation et à la mise en place d'une stratégie d'estimation pour la spectroscopie quantitative 2D. D'autre part, une étude à l'aide des CRBs permet de voir l'influence des paramètres d'acquisition et des phénomènes de relaxation. Dans cette partie on s'intéresse à l'approfondissement de ces derniers.

1. Méthode FieldMap

Pour valider l'estimation du T_{2inh} de notre procédure de quantification, des mesures sur un fantôme d'agarose hydraté comportant des inclusions ont été effectués en LCOSY. Le fantôme a été placé au centre de l'aimant et différentes acquisition sur le pic de l'eau ont été réalisées pour des tailles de voxel différentes. De cette manière on obtient un milieu inhomogène. L'eau contenu dans ce gel aura un T_2 court, de plus ce milieu aura un T_{2inh} inhomogène lui aussi court. Une carte des inhomogénéités de champs FieldMap a été acquise et son intégration pour chaque taille de voxel a permis l'obtention d'une mesure du T_{2inh} (Figure 45). Cette valeur est comparée à celles estimées par notre procédure de quantification pour différentes stratégies :

- 1) Une estimation sans contrainte dite **libre** : l'estimation des paramètres de T_2 et de T_{2inh} se fait sur une plage de valeur allant de 0 à 1200 ms avec des valeurs initiales fixées à 100 ms.
- 2) Une estimation utilisant une **valeur initiale** : le T_2 est fixé à une valeur initiale de 100 ms et le T_{2inh} est estimé sur une plage de valeur de 0 à 1200 ms.
- 3) Une estimation **contrainte** : le T_2 et le T_{2inh} sont estimés sur des plages de valeurs respectives, le T_2 est compris entre 0 et 500 ms et le T_{2inh} est borné par la mesure du T_{2inh} de la FieldMap $\pm 20\%$. La valeur initiale de T_2 est de 100 ms tandis que le T_{2inh} est initié à la valeur de FieldMap.

Les valeurs obtenues de T_{2inh} sont comparées dans la Figure 45 à celles mesurées via la méthode FieldMap. Les cas *libre* et à *valeur initiale* proche de la valeur de T_{2inh} mesurée illustrent le problème de minima locaux donnant des valeurs de T_{2inh} sur estimées. Le cas contraint donne les ajustements présentant les résidus (différence entre le signal acquis et signal estimé) le plus faible. Dans le processus de minimisation, le fait d'utiliser des valeurs proches d'une solution supposée (ici donnée par la méthode FieldMap) permet de réduire ce problème de minima qui sera d'autant plus présent du fait des corrélations entre les paramètres T_2 et T_{2inh} au moment de l'ajustement.

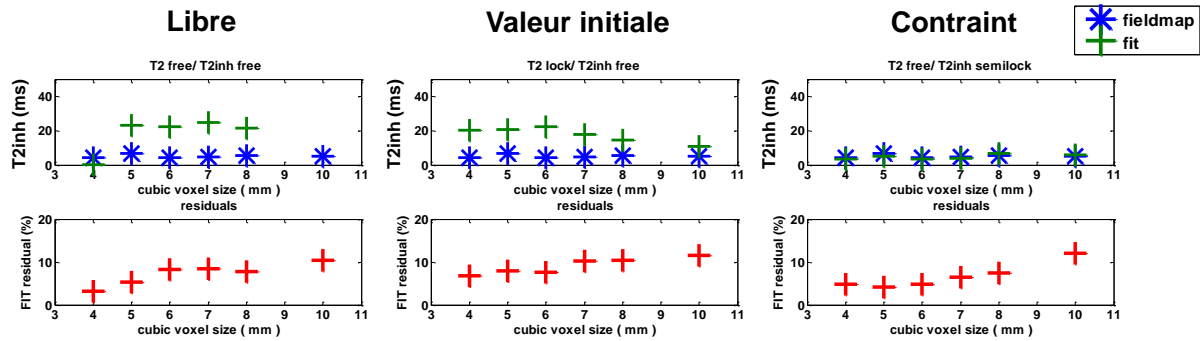


Figure 45: Valeurs estimées de T2inh comparées à la valeur obtenue par mesure sur une carte d'inhomogénéités FieldMap pour différentes taille de voxel selon différentes stratégie d'estimation.

2. Modèle de relaxation du signal :

L'enveloppe du signal 2D correspondant aux phénomènes de relaxation est caractérisé par l'apparition d'une arrête dans le plan 2D temporel (phénomène de *ridge*). Selon Ernst, ce *ridge* est dû à la refocalisation des inhomogénéités réalisée au moment du changement de signe de l'ordre de cohérence ; du fait de l'application des gradients de dispersion de part et d'autre de la dernière impulsion 90° .

En fonction de l'ordre de cohérence de la séquence, l'évolution de l'écho dans le plan temporel se verra changé. Dans le cas d'un ordre de cohérence de type N, on parle d'écho de transfert de cohérence et l'écho évoluera le long de $t_2 - t_1$, et pour un type P, on parle d'anti-écho dont la relaxation évoluera le long de $t_2 + t_1$. Il ne sera visible que si l'acquisition ne suit pas l'écho (Figure 46).

La Figure 46 illustre ce comportement pour les deux types d'ordre de cohérence.

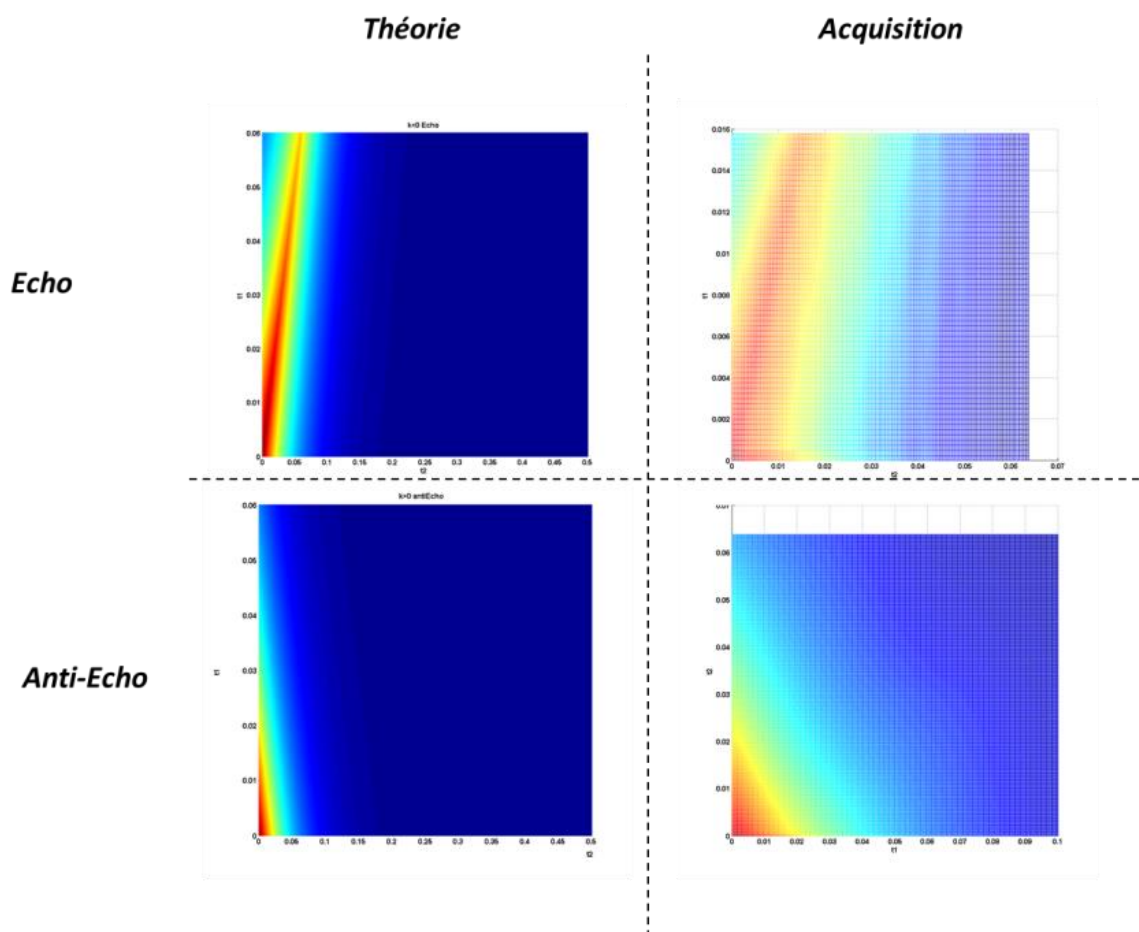


Figure 46: Évolution de la propagation des deux types d'écho en LCOSY dans le plan temporel 2D. On note différent type de relaxation

3. Acquisitions in vivo

Des acquisitions *in vivo* sur le cerveau de rat ont été réalisées à 7T afin de valider les séquences. Le temps d'acquisition de ces séquences était d'environ 30 min. Les séquences permettent de mettre en évidence les principaux singulets (Cr, Cho, NAA), cependant l'intérêt de la 2D réside dans les multiplets et ces derniers ne sont pas résolus, sûrement dû à la résolution de la dimension indirecte choisie et leur faible signal. Des acquisitions avec des temps plus longs et des accumulations plus importantes ont été réalisées en LCOSY. La Figure 47 des spectres LCOSY après post traitement sous Topspin 2.1 (apodisation *sine bell*/symétrisation) de cerveau de rat à 4.7 et 7T. Ces spectres mettent en évidence des taches de corrélation croisées, notamment le Lactate à 4.7T. Les conditions de shim à 4.7T sont bien meilleures qu'à 7T (FHMW 7T du pic de l'eau pour une PRESS sans suppression d'eau : 18Hz et à 4.7T : 10Hz).

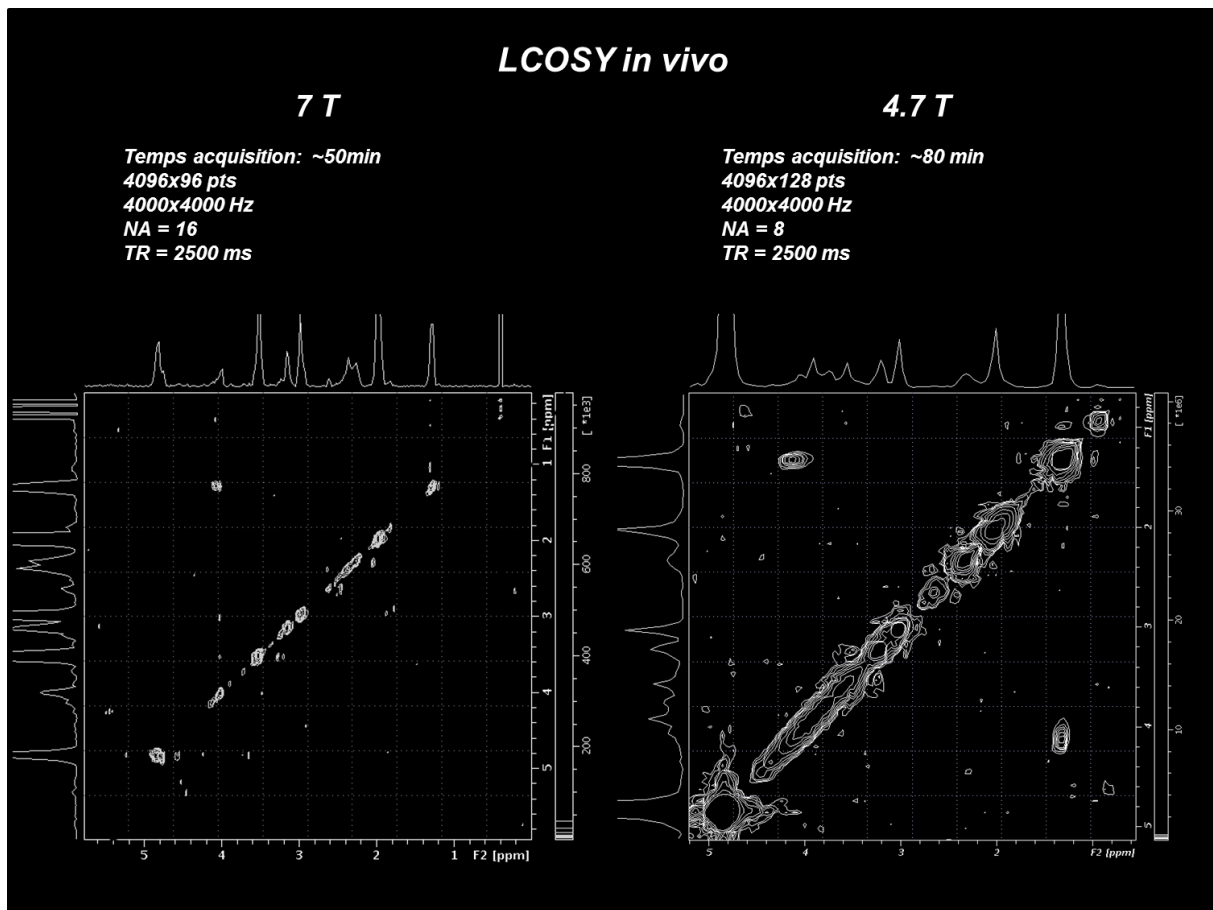


Figure 47 : Acquisition LCOSY *in vivo* à 4.7 et 7T sur un cerveau de rat. Les principaux singulets sont identifiables. Les opérations de symétrisation permettent de mettre en évidence les taches de corrélation du Lactate.

4. Étude monte Carlo

...

Conclusion

L'utilisation d'une carte des inhomogénéités pour la mesure du $T2_{inh}$ et son utilisation comme contrainte forte dans la procédure de quantification mise en place est démontrée via une application *in vitro*. Par une étude des corrélations entre paramètres du modèle on montre l'influence des paramètres entre eux, qui joue au moment de l'ajustement paramétrique, et la nécessité d'avoir une stratégie de quantification adaptée. Notre stratégie se base sur l'utilisation d'une mesure physique, son utilisation en plus d'aider la convergence de notre algorithme permet de réduire les corrélations entre paramètres. L'intérêt pour une application des différentes séquences de SRM 2D est étudié à travers une étude des bornes de Cramér Rao. L'impact de la pondération $T2$ sur la LCTCOSY est important et limite son utilisation *généraliste*. Cette dernière, au vu de sa spécificité sera à privilégier pour une étude de métabolite précis. La LCOSY montre un intérêt comparé à la JPRESS d'un point de vue quantitatif : Nous avons comparé les séquences pour des échantillonnages les plus fréquents et un même nombre de point et d'accumulation. Dans cette situation, on aura le même temps d'acquisition et les séquences de corrélation auront théoriquement la moitié du SNR de la JPRESS. Cependant on peut imaginer pour un même temps d'acquisition une stratégie d'acquisition différente présentant un nombre de point inférieur à celui choisis et un autre échantillonnage. Ces différentes possibilités sont étudiées pour la JPRESS dans Bolliger *et al.*

La procédure de quantification développée souffre de défaut de jeunesse :

- L'identification automatique des pics de corrélation croisée et leur correspondance avec les autocorrélations, notamment dans les spectres ayant des composés complexes peut être améliorée.
- L'interface utilisateur à développer.
- La stratégie de quantification éprouvée en pratique peut encore être optimisée

Chapitre 4 :

Application de la spectroscopie L-COSY pour l'étude des lipides hépatiques et abdominaux chez un modèle de souris obèse

Introduction

La SRM est principalement utilisée in vivo pour des études sur le métabolisme cérébral. Cependant, ces dernières années ont vu l'utilisation de cette technique pour étudier le métabolisme lipidique du foie. Cet organe est vital pour l'organisme car, en plus de ses fonctions amphicrines (fonctions endo et exocrines), il permet la destruction des toxines (clairance hépatique) mais aussi le stockage d'une multitude de substances (vitamines, fer, glucose). Comme tout organe vital, les pathologies qui lui sont associées sont graves. Dans ce chapitre nous nous intéressons à l'étude de la composition des lipides hépatiques et sous cutanés dans le cadre d'un modèle de souris obèse. L'obésité est définie par l'organisation mondiale de la santé comme « *une accumulation anormale ou excessive de graisse qui présente un risque pour la santé* »[101]. L'obésité induit généralement une accumulation de triglycérides dans le foie : la stéatose hépatique. Bien qu'appétissante chez les gallinacés, cette pathologie est dangereuse et évolue très rapidement vers des formes mortelles (diabète, obésité, cirrhose, cancer). La stéatose est une maladie qui évolue par grades définis selon l'intensité de l'atteinte identifiée par histologie. L'identification de ces grades permet d'ajuster le traitement thérapeutique. Ces grades peuvent aussi être identifiés via la composition lipidique du foie. Il existe des méthodes telles la chromatographie gazeuse permettant de déterminer ces différents composants, cependant cette méthode est destructive. De récentes techniques d'imagerie (Dixon, multi-écho) ont montré la possibilité d'identifier ces grades via l'imagerie IRM des triglycérides du foie [102] cependant ces techniques se heurtent au problème d'ambiguïté de composante dominante dû à la composition multi spectrale des triglycérides. La recherche sur de telles techniques d'imagerie, utilisables en clinique, est un pan important des travaux de notre équipe. Ces cinq dernières années, des développements méthodologiques en SRM 1D ont démontré la capacité de la SRM 1D quantitative de suivre et de caractériser des triglycérides hépatiques in vivo [15][5]: le comportement de la composition lipidique en cas de pathologies hépatiques varie fortement selon la nature fibrotique, inflammatoire, cancéreuse ou uniquement stéatosique du foie. En effet, la nature chimique des acides gras est très importante dans leur devenir métabolique : oxydation, stockage mais également dans leurs conséquences métaboliques, les acides gras saturés étant plus délétères que les acides gras polyinsaturés à longue chaîne. Cependant les inhomogénéités de champ dans cet organe sont importantes (largeur à mi-hauteur du pic de l'eau >50Hz, à comparer à 10Hz dans le cerveau à 7T) du fait de l'hétérogénéité du tissu; si bien que ces spectres 1D présentent parfois une faible résolution spectrale. L'approche quantitative pour cette application est différente de celle des métabolites cérébraux : le but de la quantification est ici de remonter à des indices

caractéristiques des chaînes lipidiques reflétant la composition en chaîne saturées, insaturées, polyinsaturées. Dans ce chapitre, nous montrons l'utilisation et l'intérêt de la SRM 2D d'un point de vue quantitatif par rapport à une méthode *classique* de SRM 1D, pour une application *in vivo* pour la caractérisation des triglycérides hépatique et sous cutanés abdominaux.

I. Triglycéride en SRM 1D

Les lipides sont des molécules organiques ayant des rôles physiologiques essentiels à notre organisme. Les deux principaux groupes sont les phospholipides, constituants importants des membranes biologiques et les triglycérides, objet de notre étude, qui assurent les fonctions de molécules énergétiques (stockage de l'énergie). Les triglycérides (triacylglycérols) s'accumulent dans le cytoplasme et sont considérés comme des lipides mobiles 'visibles' par les techniques de RMN des liquides. Les triglycérides du foie sont issus de la combinaison de trois acides gras et d'un glycérol. Ces acides gras sont l'acide stéarique, l'acide oléique et l'acide palmitique [103].

1. Structure des acides gras

Les acides gras sont de longues chaînes carbonées associées à un groupement carboxylique. La Figure 48 représente la structure de l'acide oléique et de son dérivée saturé l'acide stéarique. Les chaînes possèdent en moyenne 18 carbones *in vivo* [5]. Ces chaînes sont composées d'acide gras pouvant être saturé ou insaturé. Un acide gras saturé correspond à une chaîne ayant des atomes de carbone totalement saturé en hydrogène : il n'existera alors pas de double liaison carbone. Au contraire, en présence d'une telle liaison on dira que la chaîne est insaturée (mono-insaturé dans le cas d'une double liaison, polyinsaturé pour plusieurs).

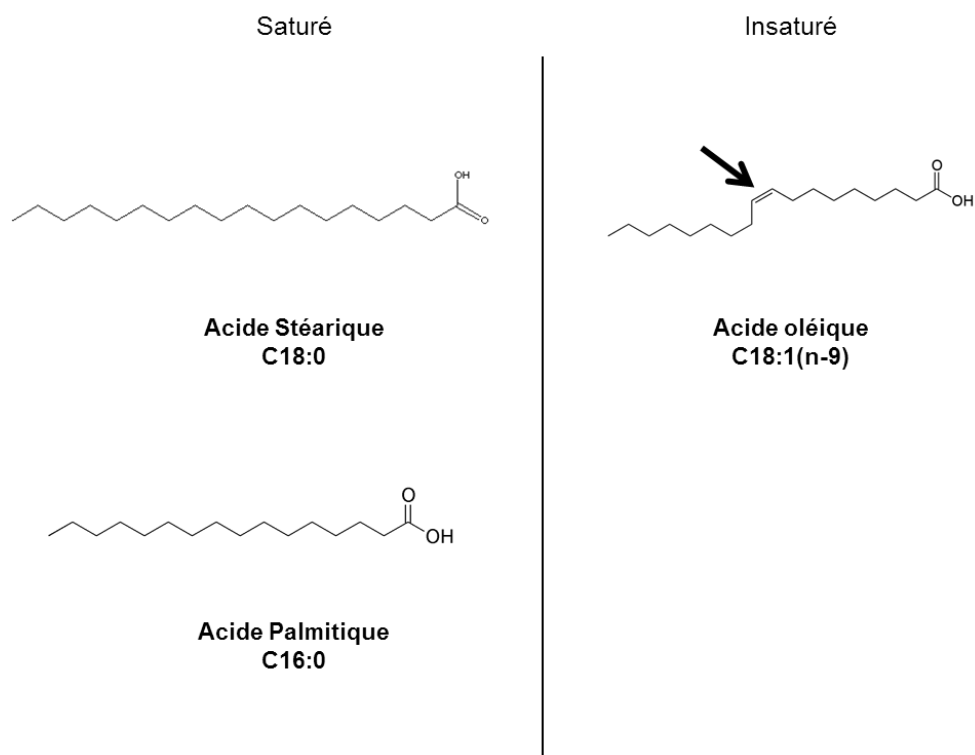


Figure 48 : Représentation d'un triglycéride. Exemple pour l'acide oléique et sa forme saturée l'acide stéarique. La notation associée en bas du nom de chaque molécule correspond à la notation systématique des lipides indiquant le nombre de carbone de la chaîne (18 dans notre exemple), le nombre d'insaturation (0 pour l'acide stéarique et 1 pour l'acide oléique) et enfin la position en numéro de carbone de cette dernière par rapport au groupement carboxylique.

Les groupements de ces acides gras auront donc une signature spectrale qui se différenciera en fonction de la position de la/ou des doubles liaisons mais aussi de la longueur de la chaîne carbonée. Le Tableau 6 indique les différents groupements des acides gras résonants dans un spectre.

Tableau 6 : Principaux groupements chimiques présent dans une chaîne de triglycérides et observables en SRM.

Groupe chimique	Déplacement chimique (ppm)	Description	Nombre de protons
CH_3	0.9	Méthyl	3
$(\text{CH}_2)_n$	1.3	Méthylène	$2 \cdot n$
$\text{C}-\text{CH}_2\text{CO}$	1.6	β -méthylène au groupement carboxyle	4
$\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2$	2	Allylique	2
$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$	2.25	α -méthylène au groupement carboxyle	2
$\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}$	2.8	Diallylique (polyinsaturation)	1
CH_2-COO	4.07	Glycérol	1
$\text{CH}-\text{COO}$	4.23	Glycérol	1
$\text{CH}=\text{CH}$	5.3	Oléfinique (monounsaturation)	2

2. Spectre des acides gras

La Figure 2 présente un spectre haute résolution acquis sur un extrait de tissus adipeux brun. Le pic principal des triglycérides se trouve à 1.3 ppm et correspond à un multiplet dû au groupement méthylène. Contrairement à l'approche quantitative des métabolites cérébraux, où un métabolite est caractérisé par des résonances spécifiques, les triglycérides auront des résonances similaires mais le rapport des résonances correspondantes à des groupements chimiques est porteur d'information sur la composition de ces triglycérides.

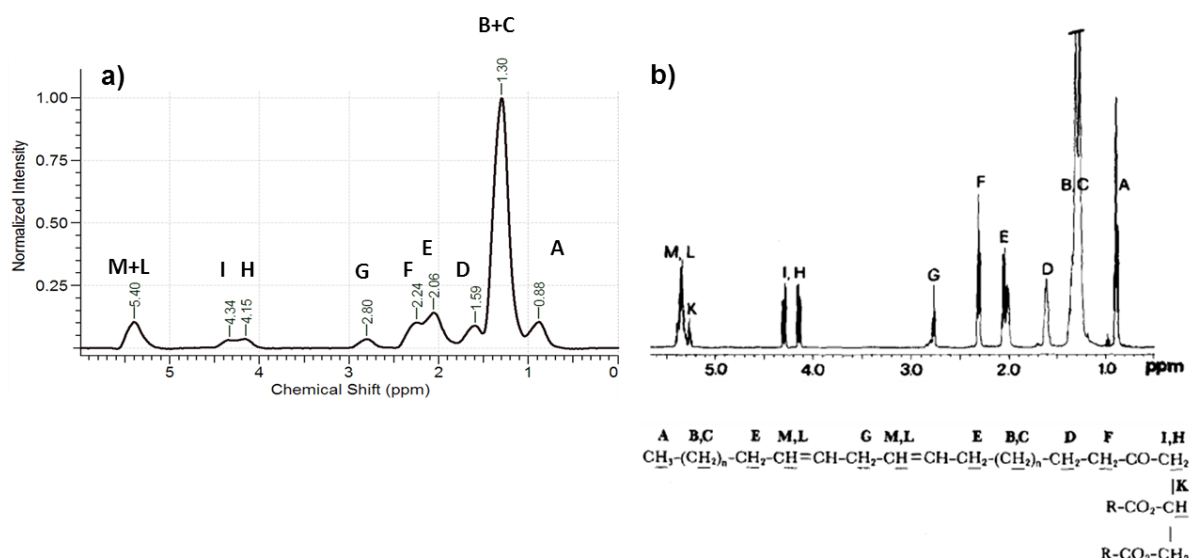


Figure 49 : a) Spectre PRESS in vivo (TE = 16 ms, TR=3000ms) du tissu adipeux d'une souris obèse à 7T b) Extrait de tissus brun acquis en haute résolution (500Mhz) et résonances associées aux différents groupements d'une chaîne de triglycérides (extrait de Zancanaro [104]).

Le spectre 2D de ces composés sera donc un spectre complexe où plusieurs pics d'autocorrélation correspondront à plusieurs contributions, mais grâce aux tâches de corrélation croisée, on aura une possibilité de discrimination des pics supplémentaire : par exemple dans la Figure 49 ; pour le pic à 1.3 ppm les groupements correspondant aux groupements B et C seront fortement enchevêtrés dû à la relaxation et leur proximité en fréquence (Figure 49a). Cependant dans le spectre 2D, on aura les taches de corrélation entre A et B, C et E, D et C pour aider à la discrimination des différentes contributions de chaque groupement.

3. Quantification des triglycérides

L'information quantitative est portée par des indices correspondant au ratio d'amplitude entre différentes résonances. En combinant la connaissance de la structure d'un triglycéride et du groupement, on pourra remonter à une information représentative de la structure moyenne des triglycérides présents dans le tissu analysé. L'expression de ces différents indices d'intérêt est donnée dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Indices sur les intensités de la résonance des différents groupements résonant dans un spectre des triglycérides et représentatifs de la composition des triglycérides *in vivo*. Les indices en rouge sont ceux retenus dans notre étude.

Indice	Expression (groupement)	Appellation (littérature)
Quantité Lipidique	$\frac{A + B + C}{H20}$	$\frac{Tri09 + Tri13}{H20}$
Saturation	$\frac{3}{2} \frac{B + C}{A}$	$\frac{3}{2} \frac{Tri13}{Tri09}$
Fraction d'Insaturation	$\frac{3}{2} \frac{M + L}{A}$ $\frac{3}{4} \frac{E}{A}$ $\frac{1}{2} \frac{E}{F}$	$\frac{3}{2} \frac{Tri53}{Tri09}$ $\frac{3}{4} \frac{Tri20}{Tri09}$ $\frac{1}{2} \frac{Tri20}{Tri23}$
Polyinsaturation	$\frac{3}{2} \frac{G}{A}$ $\frac{G}{F}$	$\frac{3}{2} \frac{Tri28}{Tri09}$ $\frac{Tri28}{Tri23}$

- **La quantité lipidique** dans le voxel d'intérêt est le rapport entre la quantité de protons qui intervient dans les groupements méthyle et méthylène des chaînes lipidiques et celle de l'eau.

- **L'indice de saturation** est défini comme le rapport entre les protons des groupements méthylène et méthyle [105] . La résonance attribuée au groupement méthylène est la plus intense, le groupement méthyle se trouve en terminaison d'une chaîne lipidique. Cet indice reflète de manière indirecte la saturation des chaînes d'acides gras.

- **L'insaturation** peut être estimée ou caractérisée selon plusieurs indices correspondant soit aux taux moyens d'acides gras insaturés par chaîne lipidique soit au nombre moyen de doubles liaisons par chaîne lipidique.

- **La fraction d'insaturation** représente le rapport entre le groupement allylique, proche d'une unique double liaison et le groupement α -méthylène au groupement carboxyle.

- **L'indice d'insaturation totale** des acides gras est donné par le rapport entre les protons du groupement allylique, proche d'une unique double liaison et ceux du méthyle. Il donne la contribution des protons méthylène proches d'une unique double liaison (CH₂-CH₂-CH=CH-). Ce schéma apparaît deux fois dans tous les acides gras insaturés, indépendamment de leur degré d'insaturation [105]

Ces deux indices sont équivalents et augmentent avec le nombre d'acides gras insaturés.

- **L'insaturation totale des chaînes** est donnée par le rapport entre les protons du groupement oléfinique et ceux du méthyle. Le groupement oléfinique, associé à la double liaison, est observé en cas de mono insaturation et de polyinsaturation [105]

Cet indice traduit le nombre moyen de doubles liaisons par chaîne.

- **L'insaturation totale** est le rapport entre les protons du groupe oléfinique rapporté aux protons de l'eau et du groupement méthylène, qui est considéré comme le groupement lipidique le plus important [106]

II. Spectroscopie d'un modèle murin

1. Modèle murin

Le modèle de souris utilisé pour notre étude est un modèle de souris C57BL/6J-ob/ob dit souris obèse (

Figure 50). L'obtention d'un tel modèle est obtenue par inhibition de l'hormone de satiété (leptine). Ce modèle a les symptômes du syndrome métabolique et une stéatose qui peut évoluer en stéatohépatite (stéatose hépatique s'accompagnant d'inflammation et de fibrose) par administration d'une endotoxine pyrogène : la lipopolysaccharide). Le foie d'une telle souris aura donc une proportion de lipide beaucoup plus importante par rapport à une souris saine, nous permettant ainsi d'obtenir un SNR important dans les spectres et correspondra à une situation pathologique dont on pourra suivre l'évolution.

2. Protocole expérimental

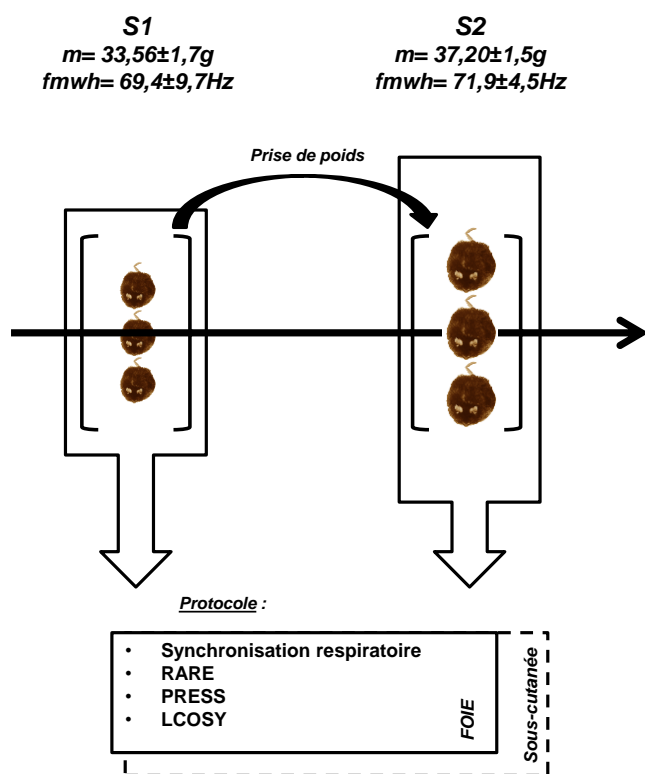


Figure 50 : Synthèse du protocole expérimental utilisé pour l'étude. Les temps S1 et S2 correspondent aux temps de vie des souris respectif de 5 et 7 semaines après la naissance. Les masses moyennes (m) sont présentées pour le groupe et augmentent sur les deux semaines. La largeur à mi-hauteur du pic de l'eau est donnée ($fmwh$) et mesuré sur le spectre 1D PRESS.

Pour cette étude méthodologique, une demande d'autorisation de projet utilisant des animaux à des fins scientifiques a été soumise et validée sous la référence n° 01398.01 par le ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche ainsi que par le comité d'éthique local (CELYNE). La Figure 50 schématise le protocole expérimental utilisé. Un groupe de 5 souris ob/ob ont été acquises sur deux semaines sur un IRM Bruker 7T AVANCE II de la plateforme d'imagerie CERMEP. Deux souris ont été utilisées afin de mettre en place le protocole : avec la prise de poids, ces souris prennent un volume conséquent et ne peuvent plus être insérées dans l'antenne. Dans le stade d'un suivi dans le temps il a fallu évaluer cette prise de volume. Au final n=3 souris ob/ob ont été utilisées à deux périodes de temps (S1 : 5 semaines et S2 = 7 semaines après la naissance). Chaque souris a été pesée avant les acquisitions. Les souris sont anesthésiées par inhalation d'isoflurane à 5% dans de l'air lors de l'induction puis fixées à 1,5-2% pendant les acquisitions. Un capteur volumique en quadrature a été utilisé en émission-réception pour les acquisitions. La température corporelle est maintenue à 37°C par un système de circulation d'eau. Un capteur pneumatique a été utilisé pour mesurer le cycle respiratoire. Les acquisitions ont été synchronisées sur la respiration du sujet selon une méthode mise au point dans l'équipe afin d'acquérir le signal toujours au même moment du cycle de la respiration et ainsi d'obtenir une amplitude et une phase optimales pour le signal moyenné[107]. Une absence de synchronisation induit donc un spectre moyen affecté par des termes de phase et largeur de raie dégradée et donc à une mauvaise estimation des amplitudes des pics de résonances[108].

3. Paramètres d'acquisition

Le temps de répétition de la séquence sera dépendant de cette synchronisation (en respiration normale TR ~3s). Une séquence RARE synchronisée sur la respiration (turbo spin écho pondérée en T2) est utilisée afin de localiser le foie et les tissus sous-cutanés et pour s'assurer du bon positionnement du voxel de spectroscopie. Ce dernier est cubique et mesure 3mm de côté. Il a été placé de manière à contenir une zone du foie la plus homogène possible (loin de la vascularisation) et dans le tissu adipeux, dans une zone homogène du tissu. Les impulsions utilisées pour les séquences ont une largeur de bande de 4 kHz pour les impulsions 90° et 2 kHz pour les 180°. Sur deux semaines, l'accumulation de lipide par le modèle provoque dans le spectre des changements d'intensité des résonances dans le spectre : le pic principal des lipides à 1.3 ppm va devenir prééminent par

rapport au pic de l'eau, provoquant un décalage de la fréquence porteuse lors de la deuxième semaine.

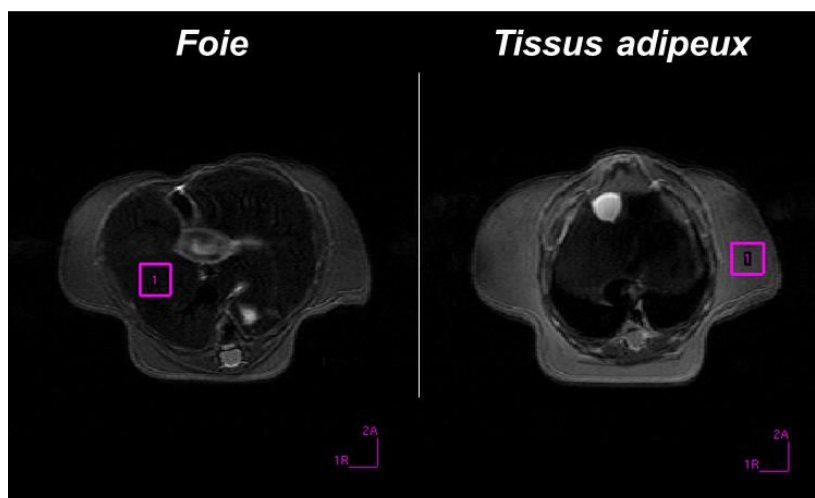


Figure 51 : Image RARE abdominale d'une même souris utilisée pour la localisation du voxel de spectroscopie.

Une séquence PRESS ($NA = 1$, $Fe = 4000\text{Hz}$, $nPts = 2048$) est ensuite acquise afin d'ajuster le shim. Ce dernier a été réalisé plusieurs fois en utilisant diverses méthodes (ajustement manuel, FASTMAP, FieldMap) jusqu'à ce que le pic de l'eau ait une largeur à mi-hauteur satisfaisante ($<70\text{Hz}$ à 7T) pour le foie. Pour les acquisitions sur le tissu adipeux, la qualité du shim a été ajustée sur le pic du groupement méthylène à 1.3 ppm ($<40\text{Hz}$ à 7T). Une séquence PRESS ($TE = 16\text{ ms}$, $nPts = 4096$, $Fe = 4000\text{ Hz}$, $NA = 64$) a été acquise dans un voxel cubique de 3 mm de côté dans le foie et le tissus adipeux. Le temps d'acquisition de cette séquence varie en fonction de la respiration du sujet et prend ~ 5 minutes. Après cette séquence de SRM 1D, une séquence L-COSY, elle aussi synchronisée sur la respiration est acquise en utilisant le même voxel ($NA = 1$, $Fe = 4000 \times 4000\text{Hz}$, $nPts = 4096 \times 256$). Ces acquisitions ont été répétées dans le foie et ensuite dans le tissu adipeux.

III. Acquisitions sur le foie de souris ob/ob

1. Spectroscopie 1D

Un spectre 1D représentatif du groupe de souris est présenté en Figure 52. On note une largeur à mi-hauteur importante des différents pics.

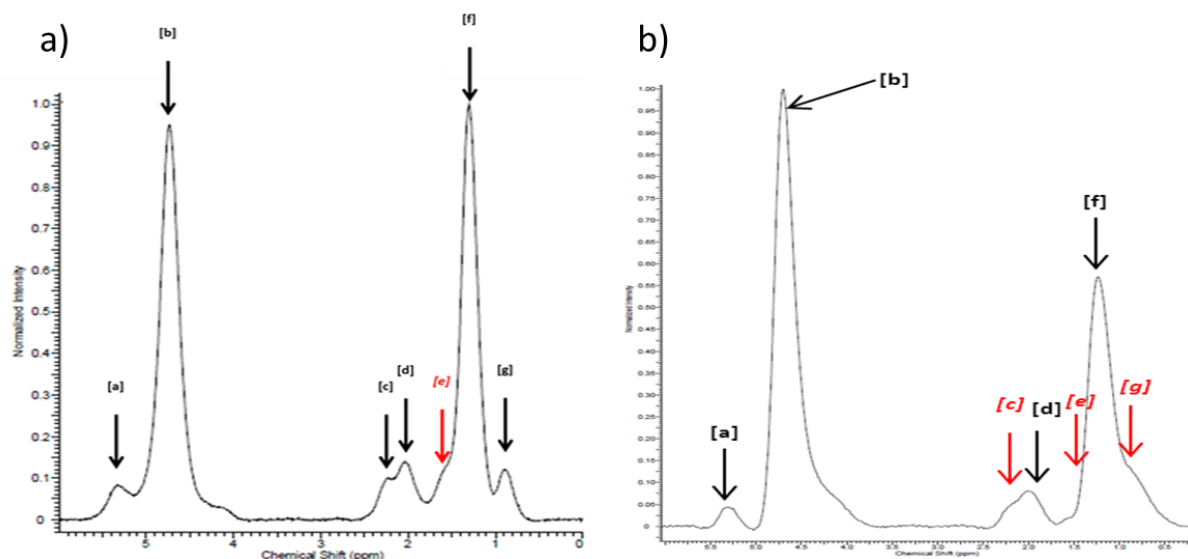


Figure 52 : Spectres 1D PRESS représentatifs du groupe de souris pour deux conditions de shim : a) Situation de shim telle que la largeur à mi-hauteur du pic de l'eau à 4.7ppm mesuré est à 44Hz et celui du pic à 1.3ppm à 44Hz et b) à 70Hz pour l'eau et 70Hz pour le pic à 1.3ppm. En fonction de la qualité du shim, certaines résonances n'apparaissent pas clairement (représentées en rouge). Les différentes résonances annotées sont données en Tableau 8 du paragraphe 4-c.

Les spectres 1D ont été quantifiés en utilisant un modèle de fonction Voigt sur chacune des neufs composantes du spectre [109]. Les résultats sont comparés aux acquisitions 2D dans la suite.

2. Spectroscopie 2D

Un spectre 2D LCOSY est présenté en Figure 53. Comme pour le spectre 1D, on observe les mêmes neuf résonances le long de la diagonale d'autocorrélation. Ces dernières sont cependant mieux résolues car des taches de corrélation associées apparaissent autour de la diagonale correspondant aux différentes liaisons entre les groupements.

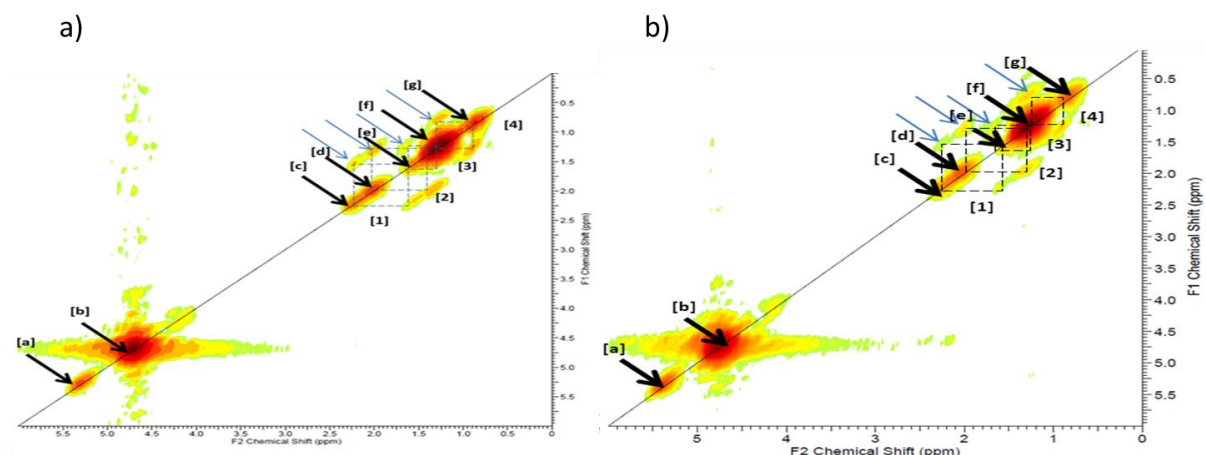


Figure 53 : Spectre LCOSY du foie. L'assignement des différentes résonances est donné dans le Tableau 8.

La quantification de ces spectres a été réalisée par intégration des zones correspondantes aux différentes résonances dans le spectre en magnitude, en utilisant le logiciel Topspin 2.1.

3. Résultats

Les acquisitions des spectres du foie présentent une qualité fortement dépendant du shim, mais aussi de la prise de poids de la souris, en accumulant plus de triglycérides les différents pics associés sont renforcés par rapport au pic de l'eau. En dépit du peu d'accumulation en spectroscopie 2D, le spectre expose clairement les taches de corrélation des différentes résonances (Tableau 8). La largeur à mi-hauteur des pics de l'eau et du méthylène à 1.3 ppm sont caractérisés à la fois par les inhomogénéités et le temps de relaxation très court des groupements le composant. Malgré cela en 2D, on obtient des spectres exposant clairement les différentes résonances enchevêtrés dans le spectre 1D (Figure 57).

Tableau 8 : Principales résonances observés dans le foie en spectroscopie 1D (a-g) et en 2D (a-g & 1-4)

	Location (ppm)	Assignement	Cross-correlation	
[a]	5.3	-CH=CH-	[1]	2.25x1.6
[b]	4.7	H ₂ O	[2]	2.0x1.3
[c]	2.25	-CO-CH ₂ -CH ₂ -	[3]	1.6x1.3
[d]	2.0	-CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -	[4]	1.3x0.9
[e]	1.6	-CO-CH ₂ -CH ₂ -		
[f]	1.3	-(CH ₂) _n -		
[g]	0.9	-(CH ₂) _n -CH ₃		

4. Calcul des indices pour le foie

Les différentes méthodes d'acquisition 1D et 2D ont été quantifiées pour les spectres du groupe de souris obtenu sur les deux points temporel du suivi longitudinal. Les indices d'intérêt et comparable retenue entre les méthodes sont la fraction d'insaturation et l'indice de saturation des chaînes de triglycérides. Il existe différentes façon d'exprimer ces indices dépendant de la qualité de la quantification et du nombre de résonance à prendre en compte. Le choix des résonances dans notre calcul d'indice a porté sur les résonances à 0.9/1.3/2.0/2.25 ppm.

La méthode de quantification utilisée pour la spectroscopie 1D est basée sur une approche de modélisation par un modèle Voigt des différentes résonances présentes dans le spectre. Neuf composantes ont été modélisées pour chaque spectre. À partir des résultats obtenus par quantification, on peut estimer les différents indices. Ce calcul a été effectué en prenant en compte pour chaque composante modélisé la perte dû à la relaxation. En fonction de l'avancée pathologique, les différents temps de relaxation évoluent : par exemple pour une fibrose, ces temps augmentent [110]. La Figure 54 présente les indices calculés pour les spectres 1D : l'indice de saturation et la fraction d'insaturation.

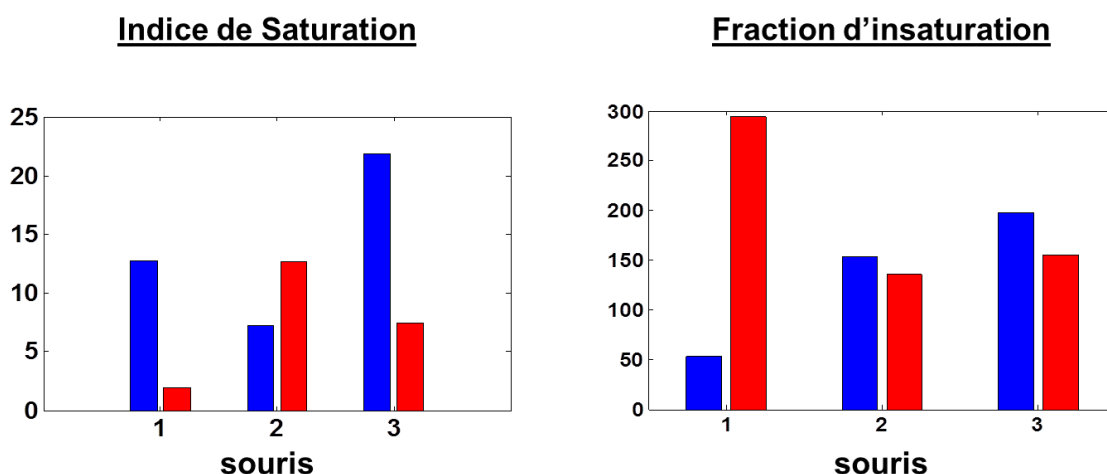


Figure 54 : Indices calculés sur les spectres 1D acquis pour deux points temporels : cinquième semaine après la naissance (en bleu) et septième semaine (en rouge).

L'indice de saturation a une valeur comprise entre 0 et 16, en situation de stéatose, cette valeur doit augmenter. Ici, ces valeurs sont dans l'intervalle attendu mais ne présentent pas la tendance attendue. Les valeurs de fraction d'insaturation dans le foie en situation de stéatose de la littérature rapportent des valeurs comprises entre 50 et 100%. Dans notre groupe de souris, ces valeurs sont au-delà de cet intervalle et n'indiquent pas une tendance

nette entre les deux points de mesure. Ces résultats de quantification ne fournissent pas une tendance nette. La procédure de quantification utilisée agit sur le FID accumulé. Cependant de par l'utilisation d'un système de synchronisation des acquisitions, la phase du signal à chaque accumulation n'est pas la même, induisant dans la quantification une mauvaise estimation. Cet artefact de mouvement peut cependant être corrigé lors de l'acquisition en utilisant une accumulation non matérielle, soit acquérir séparément les spectres. De la même manière que pour la spectroscopie 1D, la fraction d'insaturation et les indices de saturation ont été dérivés via une méthode de quantification. La quantification des spectres 2D a été opérée en utilisant une méthode d'intégration sur les différentes résonances d'autocorrélation afin de comparer les deux méthodes. Ces volumes d'intégration ont été obtenus par contourage des résonances des spectres après filtrage par un sinus cardinal et ajout de zéros au spectre pour obtenir une taille de spectre de 1024x1024 points. Ces différentes opérations ont été effectuées via le logiciel Bruker Topspin 2.1. Les indices dérivés de l'intégration sont présentés en Figure 55.

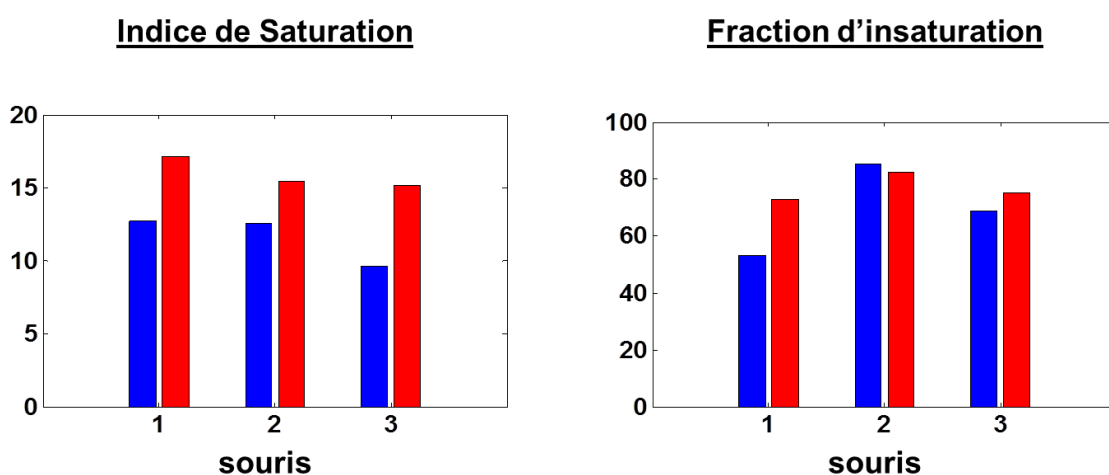


Figure 55 : Indice de Saturation et Fraction d'insaturation calculé à partir de l'intégration des résonances d'autocorrélation dans le spectre 2D.

Les indices obtenus par intégration 2D montrent une tendance à l'augmentation entre deux semaines pour la saturation, cohérente avec une prise de poids en situation de stéatose. L'évolution de la fraction d'insaturation est cependant plus nuancée notamment pour la souris n°2 où on ne constate pas d'augmentation. Ces résultats de fraction d'insaturation sont en cohérence avec les valeurs de la littérature. Cependant ces indices ont été calculés en prenant seulement en compte les autocorrélations du spectre. Comme vu dans la Figure 53, le spectre des triglycérides expose des taches de corrélation croisée en nombre important. Pour analyser dans un premier temps l'information qu'elle apporte, différents indices ont été calculés. La Figure 56 indique les différents indices représentatifs trouvés pour les deux groupes de souris sur deux semaines.

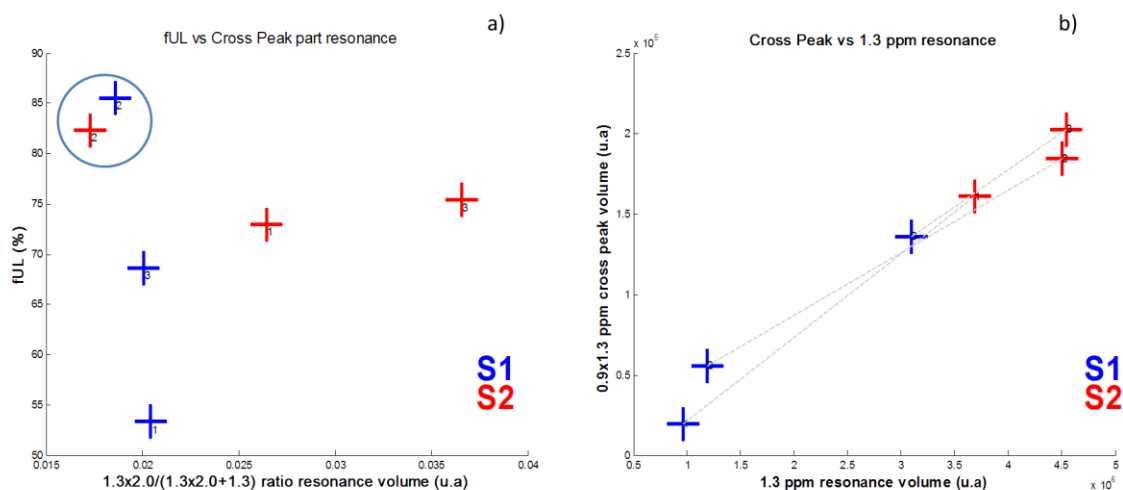


Figure 56 : Indices trouvés prenant en compte les corrélations croisés présent dans le spectre des triglycérides du foie. A) Évolution de la fraction d'insaturation en fonction de la fraction de groupement oléfinique. B) Évolution du rapport de la corrélation entre les groupements méthylène et méthyl et l'autocorrélation du méthylène.

Ces différents indices permettent de mettre en évidence une évolution du ratio entre la fraction d'insaturation et la *fraction de part oléfinique* (qu'on définit comme la portion du groupement oléfinique à 2.0 en liaison avec le groupement méthylène et contribuant à la corrélation entre le méthylène et le groupement oléfinique). Entre deux semaines on constate une augmentation de cet indice (Figure 56a). Pour la souris 2, cette augmentation est la moins importante. Un autre indice trouvé évoluant sur l'intervalle de temps est le ratio de la corrélation 0.9x1.3 ppm et de l'autocorrélation 1.3 ppm. Cette dernière évolue de manière significative entre les deux semaines. Elle indique une augmentation des lipides présent ; correspondant à une accumulation de triglycérides plus importante dans le foie (Figure 56b). La souris 2 montrant un indice d'insaturation moins important présente une évolution de la *fraction de part oléfinique* évoluant moins rapidement. On peut donc en déduire que pour cette souris le processus de transformation des lipides est différent des autres lipides et emprunte une voie métabolique différente. Un nombre plus important de souris doit cependant confirmer cette hypothèse.

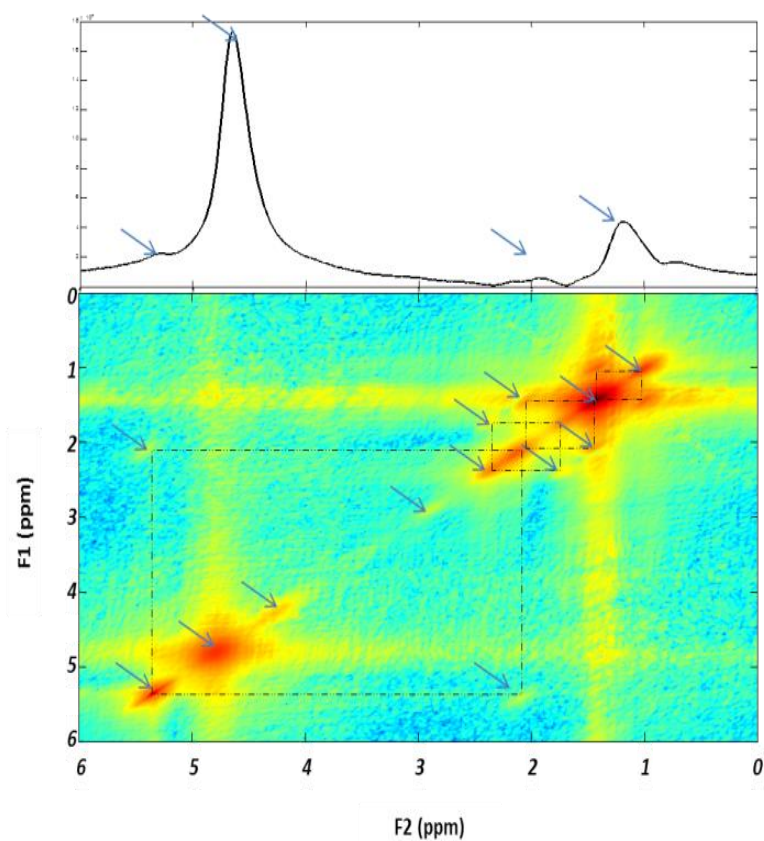


Figure 57 : Spectre 1D PRESS (haut) et spectre 2D LCOSY (en bas) acquis *in vivo* en même condition de shim dégradé (Largeur à mi-hauteur du pic de l'eau = 85Hz).

La spectroscopie 2D permet d'obtenir une information similaire à celle que l'on peut obtenir en 1D. L'utilisation d'une méthode d'intégration montre des résultats cohérents avec l'évolution de la stéatose et le calcul d'indices. L'un des intérêts de la spectroscopie pour cette application est l'obtention d'une information supplémentaire contenue dans les taches de corrélation informant sur la part de chaque groupement résonant. L'une des principales difficultés de cette étude *in vivo* est le shim. Ce dernier impactera la qualité des spectres. Dans des conditions de shim dégradé comme présenté en Figure 57, l'enchevêtrement spectral en 1D est critique, cependant le spectre 2D acquis permet de discriminer les principales résonances d'intérêt dans le calcul d'indice.

IV. Acquisitions sur les lipides sous-cutanés

1. Spectroscopie 1D

La Figure 58 présente une acquisition caractéristique d'un spectre 1D PRESS acquis sur le tissu sous cutané. La durée d'acquisition de ces spectres est d'environ 8 min. La largeur à mi-hauteur du pic principal à 1.3 ppm dans ces spectres est de 40Hz.

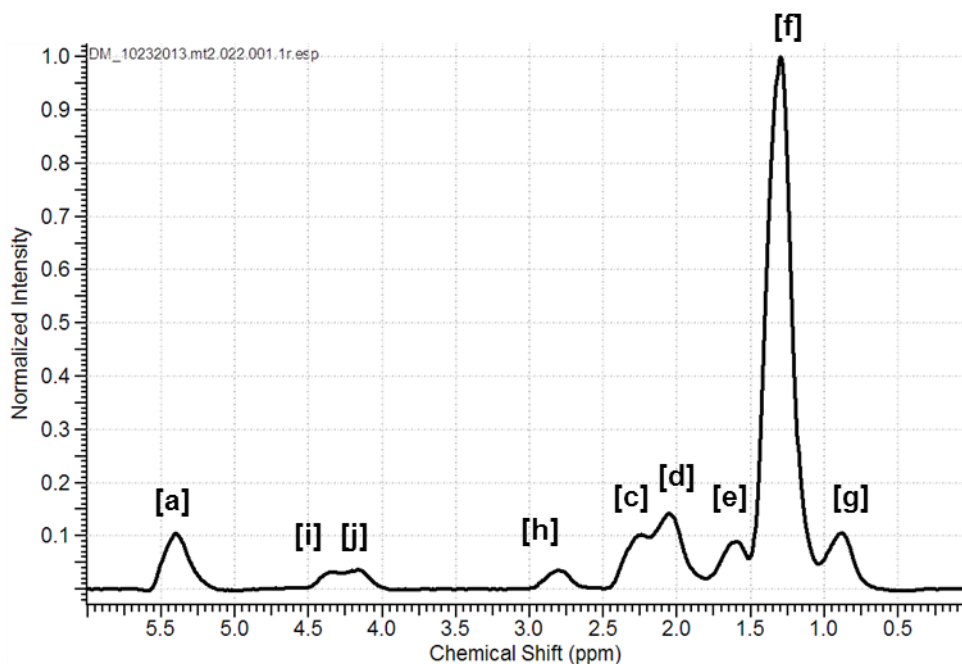


Figure 58 : Spectre 1D PRESS sur le tissu sous cutané. Le spectre présente en comparaison au spectre des triglycérides du foie une composante en moins : celle de l'eau et des résonances supplémentaire en 2.8/4.2/4.4 ppm. La résonance à 2.8 ppm est un marqueur d'insaturation. Les résonances à 4.2/4.4 proviennent des groupements glycérol, ce sont des marqueurs de bout de chaîne.

2. Spectroscopie 2D

La Figure 59 présente une acquisition caractéristique d'un spectre LCOSY acquis sur le tissu sous cutané. La durée d'acquisition de ces spectres est d'environ 15 min. Contrairement aux spectres 2D acquis sur le foie, ces spectres présentent des corrélations supplémentaires (noté 5, 6, 7, 8, 9 dans la Figure 59).

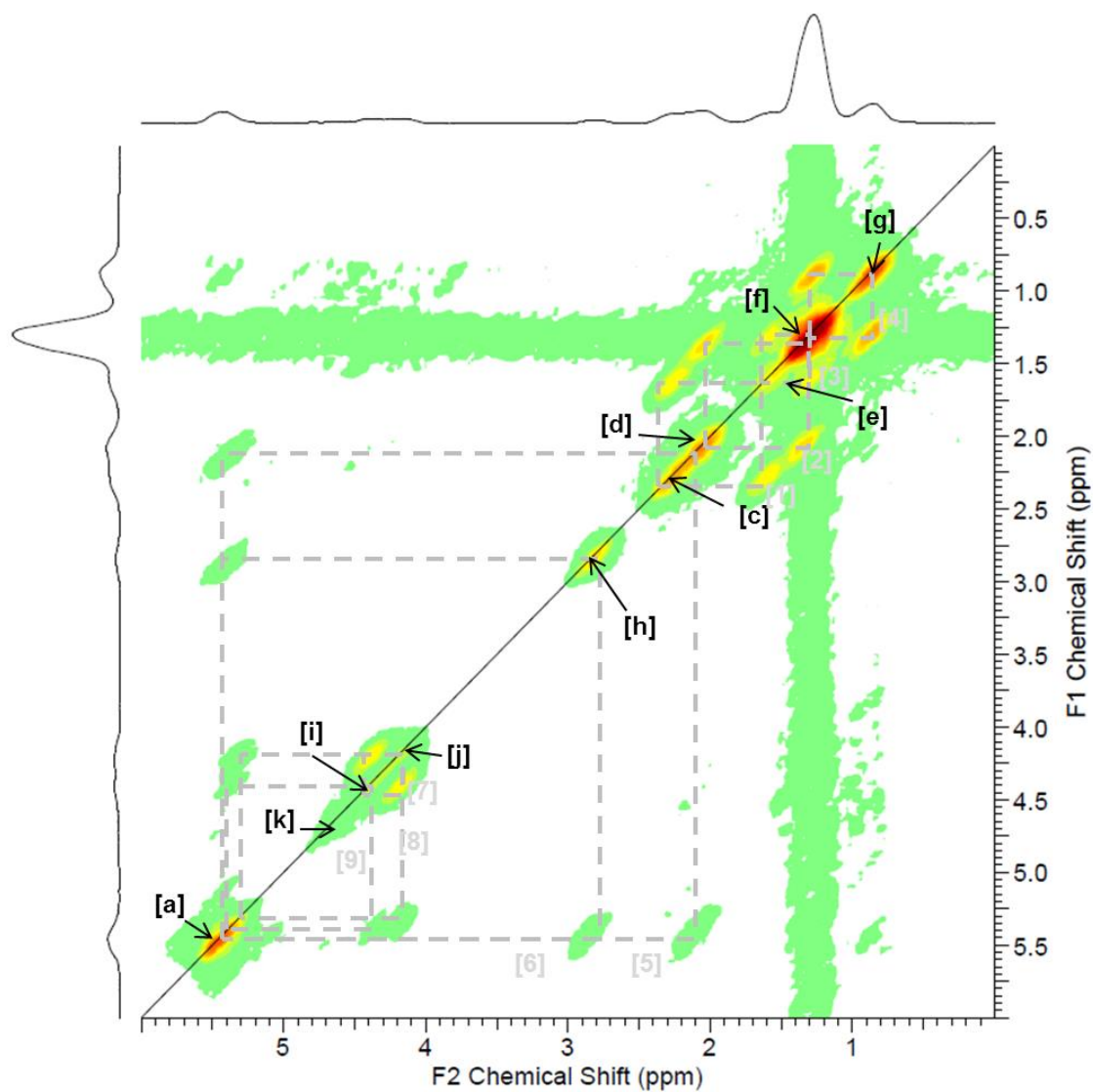


Figure 59 : Spectre LCOSY des tissus sous-cutanés. L'assignement des différentes résonances est donné dans le Tableau 9.

3. Résultats

Le Tableau 9 présente les différentes résonances repérées dans les spectres. Le tissu sous cutané ne présente pas de pic de l'eau contrairement au foie. Au contraire du foie, le shim est de meilleures qualités (largeur à mi-hauteur du pic principal d'environ 40Hz) et permet d'observer les différentes résonances avec une résolution satisfaisante.

Tableau 9 : Assignement des différentes résonances des spectres des triglycérides du tissu sous cutanées.

	Résonance (ppm)	Assignement		Corrélation croisées
[a]	5.3	-CH=CH-	[1]	2.25x1.6
[b]	x	(H ₂ O)	[2]	2.0x1.3
[c]	2.25	-CO-CH ₂ -CH ₂ -	[3]	1.6x1.3
[d]	2.0	-CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -	[4]	1.3x0.9
[e]	1.6	-CO-CH ₂ -CH ₂ -	[5]	2.0x5.2
[f]	1.3	-(CH ₂) _n -	[6]	2.8x5.3
[g]	0.9	-(CH ₂) _n -CH ₃	[7]	4.2x4.4
[h]	2.8	-CH=CH-CH ₂ -	[8]	4.2x5.2
[i]	4.2	-CH ₂ -COO	[9]	4.4x5.3
[j]	4.4	-CO-CH ₂ -CH ₂ -CO ₂ -R		

V. Conclusion sur la faisabilité de la SRM2D quantitative *in vivo* pour l'étude du contenu lipidique du foie et des tissus sous cutanés

L'acquisition de spectre LCOSY sur le foie et les tissus sous cutané est possible. L'exploitation des spectres en comparaison à leur pendant 1D montre que les différents indices sur la composition en triglycéride du foie sont accessibles via la 2D et en cohérence avec la littérature en utilisant une méthode de quantification basée sur l'intégration des volumes. Une information supplémentaire est obtenue en prenant en compte l'apport des taches de corrélation croisée, un indice d'intérêt a été mis en évidence suggérant une évolution des triglycérides pour une situation de stéatose accrue sur deux semaines pour notre groupe de souris. Une étude prenant en compte plus de sujet doit cependant être menée pour confirmer cette hypothèse et la méthode. En plus du foie, des acquisitions sur le tissus sous cutanés ont été menés et montrent des spectres de bonne qualité et résolus. La quantification des spectres du tissus sous cutané n'a pas été réalisé. La mise en relation des différents indices de la composition en triglycéride du foie et des tissus sous-cutanés est d'intérêt et permettrait de mieux comprendre les différentes voies de dégradation et d'accumulation des triglycérides [111]. Nous avons montré la possibilité d'obtenir une information quantitative à partir des spectres acquis à partir d'une méthode simple, cependant cette dernière ne prend pas en compte le potentiel quantitatif des taches de corrélation qui peuvent fournir une indication supplémentaire sur l'évolution des groupements des triglycérides. La suite de ce chapitre est consacré à l'adaptation de notre algorithme de quantification développé et dédié à la SRM2D ; pour la quantification des groupements de triglycérides.

VI. Quantification des triglycérides du foie via une méthode de quantification 2D temporelle dédiée

Nous avons présenté dans le chapitre 3 une possibilité de quantifier les métabolites cérébraux acquis via la LCOSY avec une méthode d'ajustement numérique dans le domaine temporel. L'utilisation de cette procédure de quantification demande cependant des ajustements pour son utilisation dans le cas des lipides : La base de métabolite utilisé est différente et doit être générée pour correspondre à la problématique de quantification des triglycérides dans le foie (les triglycérides ont le même spectre et diffèrent dans leur composition par la présence de groupement spécifiques). Contrairement à l'approche de quantification des métabolites cérébraux, on quantifiera non pas des résonances d'une molécule spécifiques mais des résonances de groupements présents dans différentes molécules (Figure 60). On a vu que la caractérisation de la composition en triglycéride peut être approché via des valeurs d'indices donnant une idée de la prépondérance moyenne de chaque type de groupement. Cependant la SRM 2D donne des informations plus indicatives, notamment via les taches de corrélations. À travers une méthode d'intégration sur les taches d'autocorrélation, nous avons montré que les indices trouvés correspondent à une évolution attendue de la stéatose. L'utilisation de l'information contenue dans les taches de corrélation permet d'obtenir une quantification plus précise des groupements.

L'algorithme de quantification utilisé en chapitre 3 va être modifié du point de vue de la connaissance *à priori* afin d'explorer les différentes façons d'exploiter la quantification des différents groupements. La stratégie de quantification adoptée sera différente de celle des métabolites due à l'impossibilité d'utiliser une carte d'inhomogénéités FieldMap, principalement due aux mouvements de respiration de la souris. Dans ce cas, les contraintes exercées sur les valeurs de T2 et T2inh sont plus larges que celles pour les métabolites. La valeur de T2inh est estimée à partir du T2* obtenue par la mesure de la largeur à mi-hauteur dans le foie, sur le pic de l'eau et celui à 1.3 ppm et en utilisant les valeurs de T2 typique de la littérature, on en déduit une plage d'estimation du T2inh.

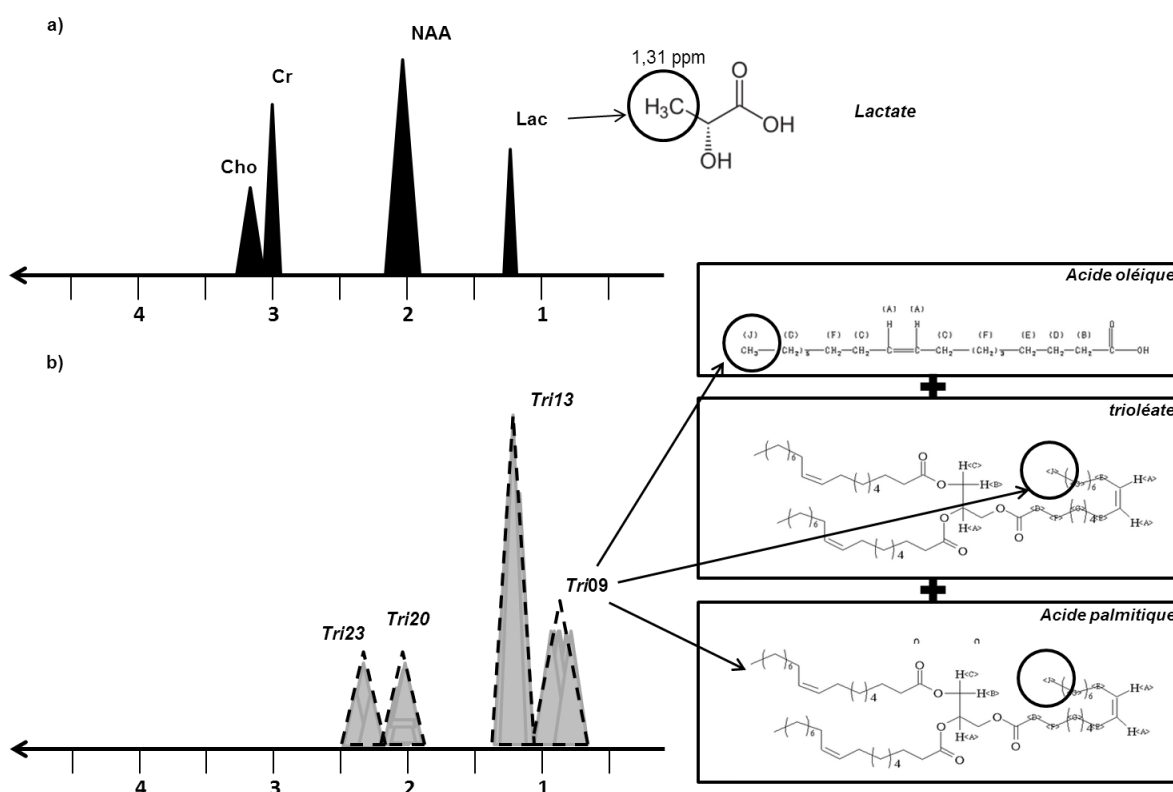


Figure 60 : Principale différence dans l'approche de quantification en utilisant une connaissance *à priori* entre les métabolites cérébraux et les groupements de la composition triglycérides. a) Une résonance appartient à un groupement d'une unique molécule b) Plusieurs groupement de différentes molécules de triglycérides participent à une même résonance.

1. Base de triglycérides

La base de triglycérides a été générée à l'aide de SPINACH en s'appuyant sur la littérature [112][113] et des acquisitions d'acide gras simple pour définir leur structure, le déplacement chimique et les couplages scalaires de chaque groupement d'intérêt à modéliser dans le spectre 2D.

La fonction modèle utilisée sera ainsi modifiée :

$$\widehat{S_{2D}}(t_1, t_2) = \sum_m a_m \hat{x}_{Tri\ m}(t_1, t_2) R_m(t_1, t_2, T_{2inh}, T_{2m}) f_m(t_1, t_2, \Delta\omega_m, \phi_0)$$

Avec a_m l'amplitude de $\hat{x}_{Tri\ m}$, groupe de spin correspondant au groupement du triglycéride modélisé, R_m le modèle de relaxation et f_m les termes de fréquence et de phase. Contrairement à l'approche « *moléculaire* », le groupe de spin d'un groupement de triglycéride sera approché par un système de spin simple (AX, AX2 ou AX₃). On ne décrira donc pas les influences du couplage scalaire intramoléculaire. Cette approche permettra

d'obtenir une indication moyenne sur la proportion de chaque groupement dans le signal. La principale difficulté de cette approche par connaissance *à priori* est la simulation des différents groupements, notamment la prise en compte de la valeur de leur couplage scalaire. Les valeurs retenues pour la génération de notre base simulée ont été obtenues auprès de la littérature [112] et les différentes bases de données sur les lipides et ajusté empiriquement. La Figure 61 indique la base de triglycérides simulé en LCOSY. En SRM 1D, la relaxation va impacter la quantification pour des résonances très proches se recouvrant l'une l'autre dû à la résolution spectrale, notamment les résonances 2/2.25 et 5.2/5.3. Ces dernières seront très difficiles à observer *in vivo* en 1D dû à leur proximité avec le pic de l'eau. La quantification en sera impactée. Du fait des corrélations entre les différents groupements, on aura un moyen supplémentaire de discriminer ces résonances : la résonance en 2 ppm aura une corrélation avec la résonance en 5.3 ppm (qu'on notera 2.0x5.3) tandis que le groupement en 2.25 ppm aura une corrélation avec le groupement en 1.6 ppm (1.6x2.25).

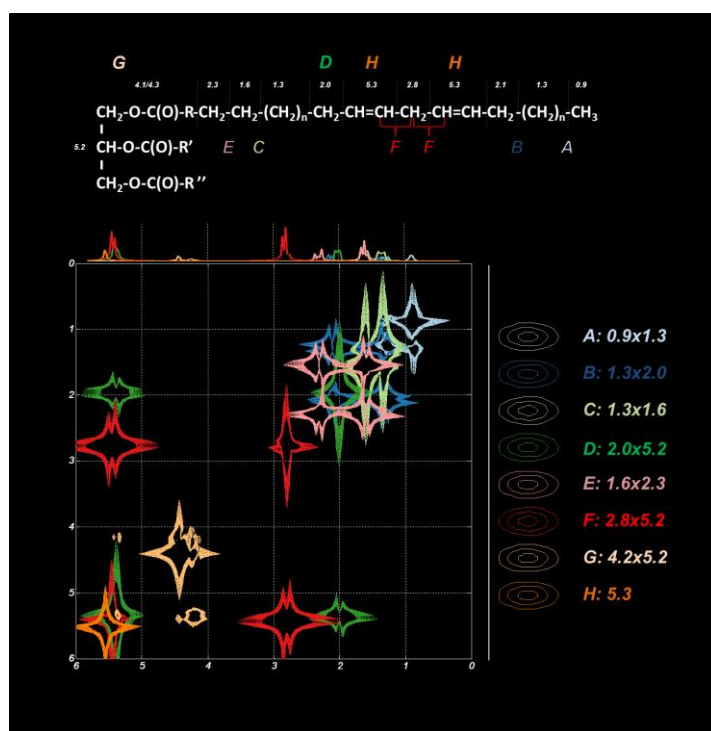


Figure 61 : Base de triglycérides simulée en LCOSY. Les simulations ont été apodisées et normalisées à la même intensité. Les résonances d'un même groupement ont la même couleur de contours.

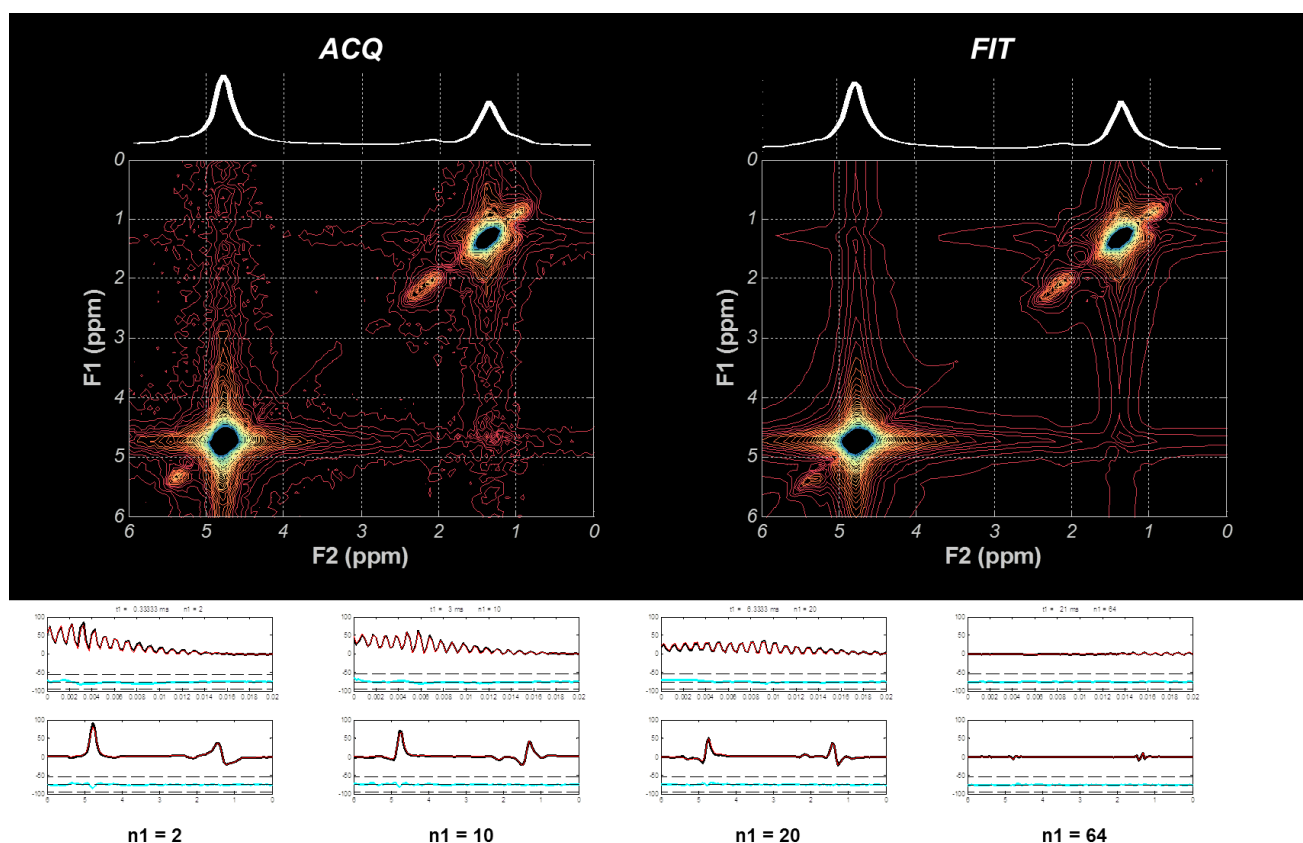


Figure 62 : (haut) Résultat de quantification sur un spectre LCOSY du foie à 7T. (bas) Différentes extractions sont présentées pour différents t1 (en rouge : fit, en noir : acquisition ; en bleu : résidus, en pointillé : $\pm 20\%$ du signal max). Le résidu obtenu est inférieur à 15%.

La Figure 66 indique le résultat de l'évolution des différentes amplitudes de chaque groupement. Les groupements *A* et *B* ont une amplitude qui augmente, correspondant à une augmentation totale du nombre de triglycérides du foie et donc une évolution de la stéatose, ce qui est attendu dans l'évolution du modèle de souris. Le calcul des différents indices est donné par la Figure 63. Les temps de relaxation T2 et T2inh obtenus sont indiqués respectivement dans les Figure 64 et Figure 65.

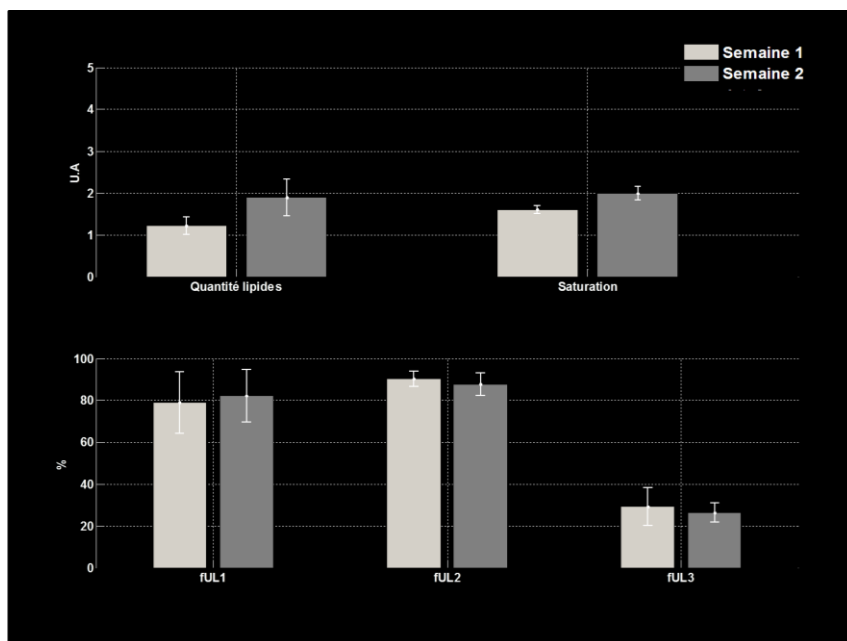


Figure 63 : Indices calculés à partir des résultats de quantification. La Fraction d'insaturation (fUL) a été calculée à partir des trois expressions indiquées dans le Tableau 7

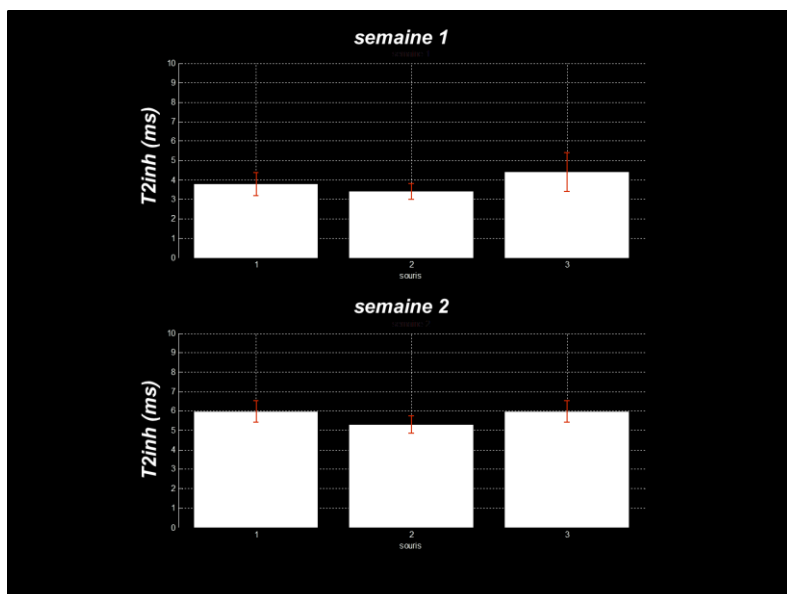


Figure 64 : T2inh moyen des groupements pour chaque souris.

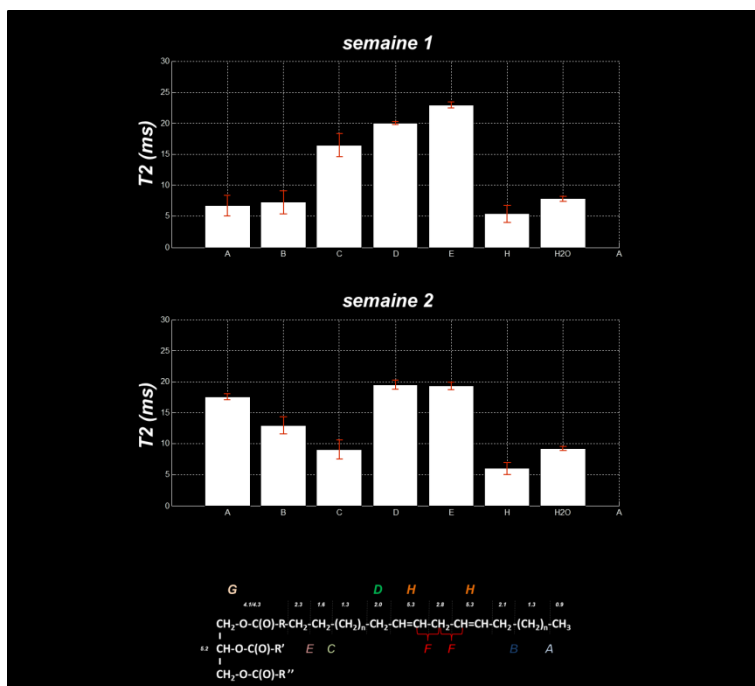


Figure 65 : Évolution du T2 moyen sur chaque souris des différents groupements estimés pour le foie (annotés selon le Tableau 10) sur deux semaines.

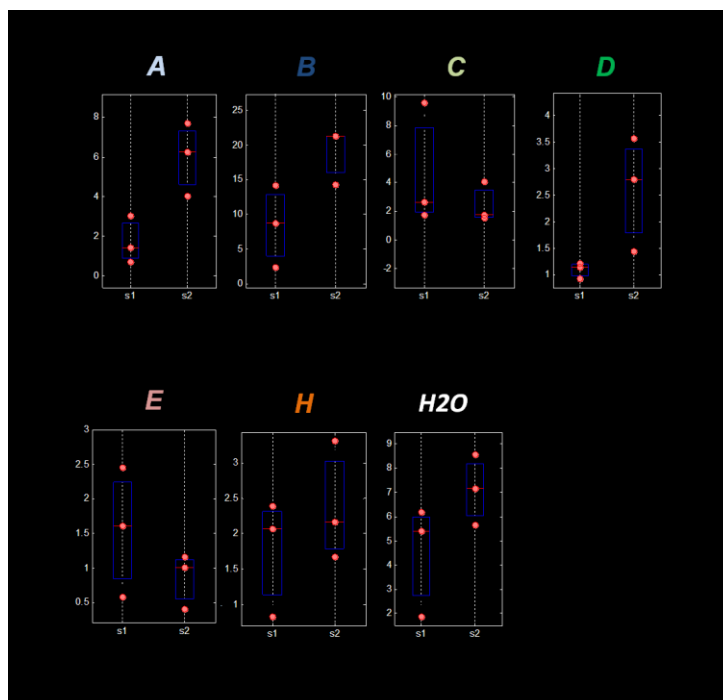


Figure 66 : Évolution de l'amplitude de chaque composante de la base de triglycérides utilisée lors de la quantification du foie entre la semaine 1 et la semaine 2 pour chaque souris.

3. Discussion/Conclusion

Les spectres exposent une qualité suffisante pour être traitée par notre procédure de quantification, et permettent de discriminer efficacement les différents groupements de triglycéride. Cette qualité se retrouve dans l'erreur d'estimation obtenue par le calcul des bornes de Cramér Rao qui est inférieure à 10%, mais aussi dans le faible résidu temporel obtenu. Les résultats sur les amplitudes montrent une évolution des différents groupements représentatifs de l'accumulation de triglycéride (A et B) ce qui est cohérent avec le modèle utilisé. Les valeurs de $T2_{inh}$ sont faibles, ce qui se répercutera sur le spectre par une largeur à mi-hauteur des différents pics importante. Ces valeurs sont représentées par la Figure 64 par la moyenne des valeurs des composantes pour chaque souris de l'étude et présentent une faible variation et des valeurs similaires cohérentes avec la valeur de largeur à mi-hauteur du pic de l'eau mesurée pour chaque souris. Les valeurs de $T2$ obtenues sont cohérentes avec celle de la littérature à des champs différents et montrent une évolution entre les deux semaines. Les triglycérides du foie sont mobiles et évoluent vers selon le métabolisme lipidique. Deux semaines après la naissance (correspondant à la semaine 1 de notre étude), les souris ob/ob exposent un haut niveau de triglycérides intracellulaire [114]. Ces derniers auront donc une mobilité réduite qui peut se traduire par une valeur de $T2$ faible. Les différents indices calculés mettent en évidence la prise de poids (Quantité lipidique) et indiquent le même résultat trouvés par la méthode d'intégration, à savoir une augmentation des triglycérides saturés d'une semaine à l'autre. Le calcul de la part de triglycérides insaturés peut être réalisé à partir de trois groupements spécifiques (E, F et H), et a été réalisé. Il montre en fonction du groupement quantifié une évolution différente avec la prise en compte du groupement H. Ce dernier a une évolution en $T2$ très légère par rapport aux autres groupements, il est possible que ce groupement présent faiblement en comparaison des groupements marquant l'insaturation E et F, soit sous-estimé lors de la procédure de quantification. Cela est dû à sa proximité avec le pic de l'eau, mais aussi de par la possibilité d'un effet dû au déplacement chimique : la bande passante minimale des impulsions RF utilisés étaient de 2kHz. Un autre problème lors des acquisitions permet de comprendre cette sous-estimation, la fréquence porteuse ordinairement est réglée sur la fréquence du pic d'eau, or lors de la prise de poids le pic du groupement B à 1.3 ppm peut devenir proéminent et être utilisée comme référence à la place du pic de l'eau.

Notre étude a montré la faisabilité de la quantification des spectres acquis avec une séquence LCOSY *in vivo*. Cette dernière quantification semble concorder avec les résultats issues de la littérature et amène des informations supplémentaires, notamment en terme de $T2$ mais aussi en terme de précision en utilisant une connaissance liée au nombre de

groupement moyen contribuant dans la part de signal. Une poursuite de cette étude sur un nombre plus important de sujet, en optimisant les acquisitions sur les principaux problèmes mentionnés comme l'utilisation d'impulsion 180° à plus large bande et en comparaison d'une méthode de contrôle (comme des mesures par biopsie et HR-MAS [15]) permettrait de corroborer la tendance de ces premiers résultats et de confirmer la méthode.

VII. Quantification des triglycérides du tissu sous-cutané via une méthode de quantification 2D temporelle dédiée

La modélisation des triglycérides du tissu sous cutané est plus complexe en comparaison de celle du foie : les résonances croisés sont beaucoup plus nombreuses et leur distribution en terme de fréquence rend leur discrimination beaucoup plus difficile : par exemple le pic à 1.3 ppm sera composé de plusieurs groupement ayant une résonance entre 1.24 et 1.32 et du fait de la relaxation et de notre résolution spectrale atteignable, une seule résonance sera visible à 1.3 ppm.

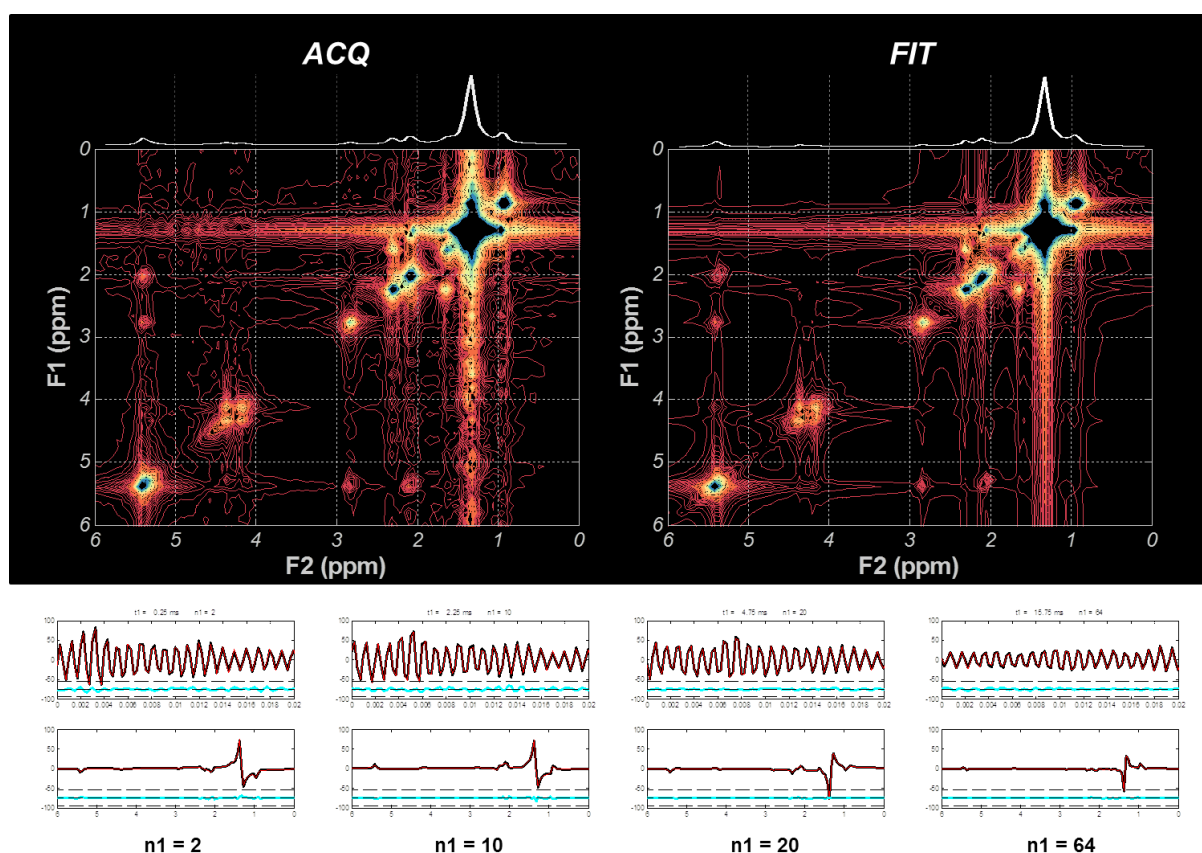


Figure 67 : Quantification des triglycérides des tissus adipeux

1. Résultats :

La quantification des différents triglycérides avec la base demande des ajustements en termes de déplacement chimique, notamment pour les groupements à 1.3 (A et B), 4.2 ppm et 5.2 ppm (F et G) afin de correspondre aux différentes composantes dans le spectre. La base a été ajustée en prenant en compte ces différences. Les figures 66,67 et 68 présentent comme pour le foie, les résultats de quantification dans le cas du tissu adipeux. La qualité du spectre acquis est suffisante pour la quantification, les résonances sont beaucoup plus visibles et définies que dans le cas du foie et exposent des groupements supplémentaires comme le groupement G marqueur de la polyinsaturation. Contrairement au foie, il n'y a pas de pic d'eau à quantifier. La définition de la quantité lipidique ne sera donc pas accessible.

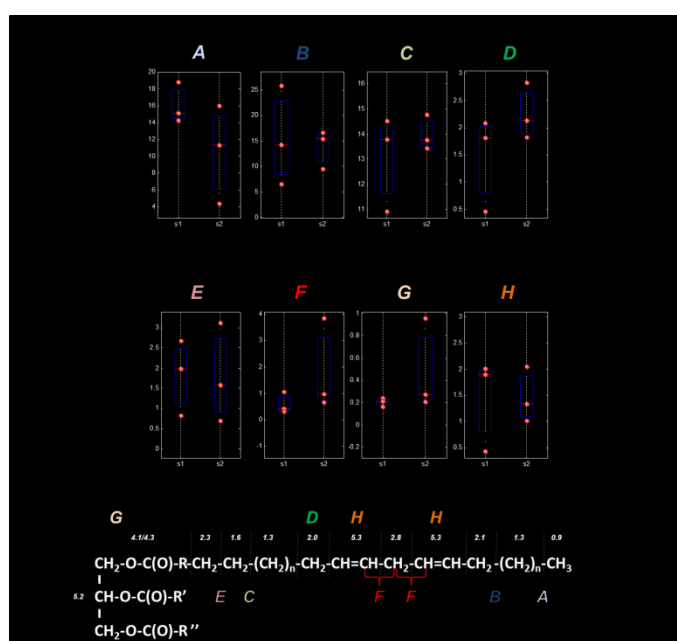


Figure 68 : Évolution de l'amplitude de chaque composante de la base de triglycérides utilisée lors de la quantification du tissu adipeux entre la semaine 1 et la semaine 2 pour chaque souris.

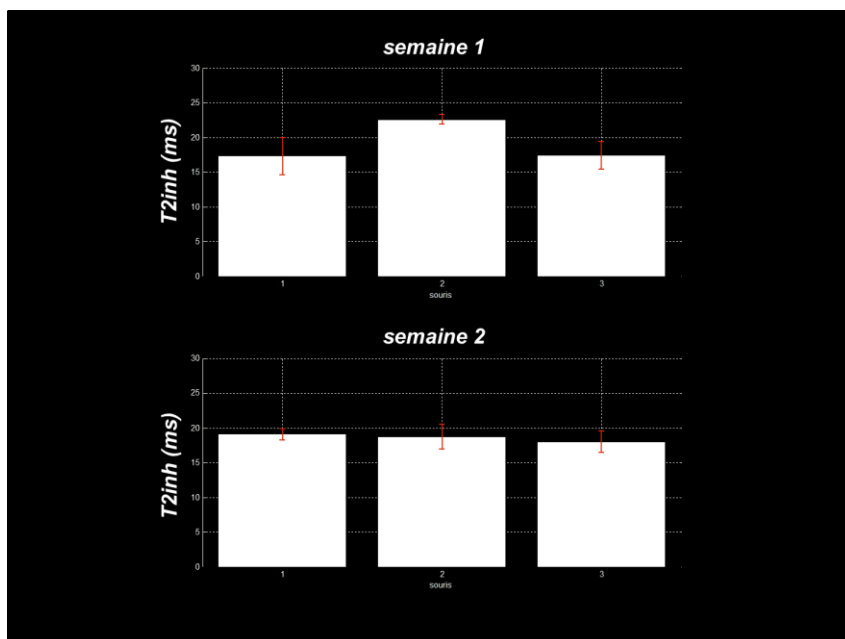


Figure 69 : T2inh moyen des groupements estimés sur le tissu adipeux pour chaque souris.

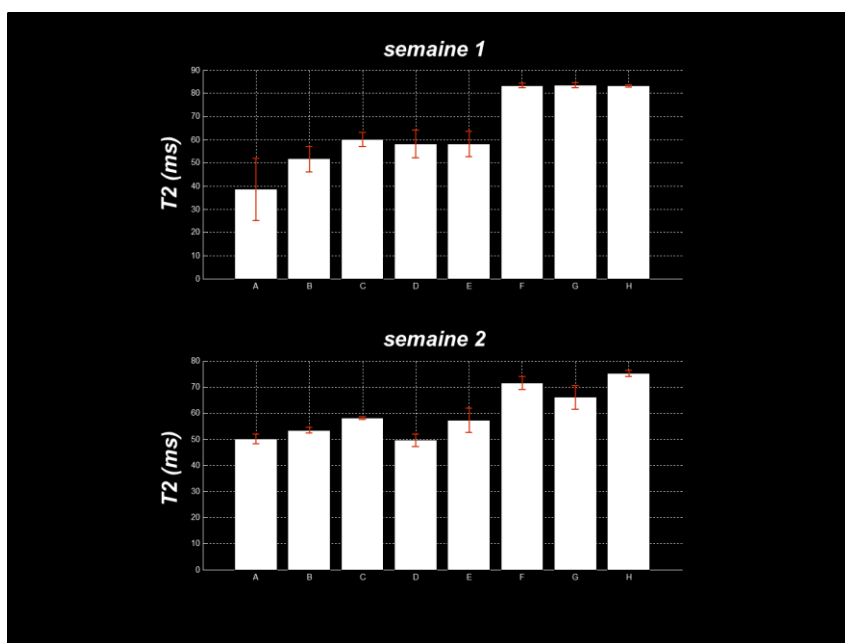


Figure 70 : Évolution du T2 moyen sur chaque souris des différents groupements estimés pour le tissu adipeux sur deux semaines.

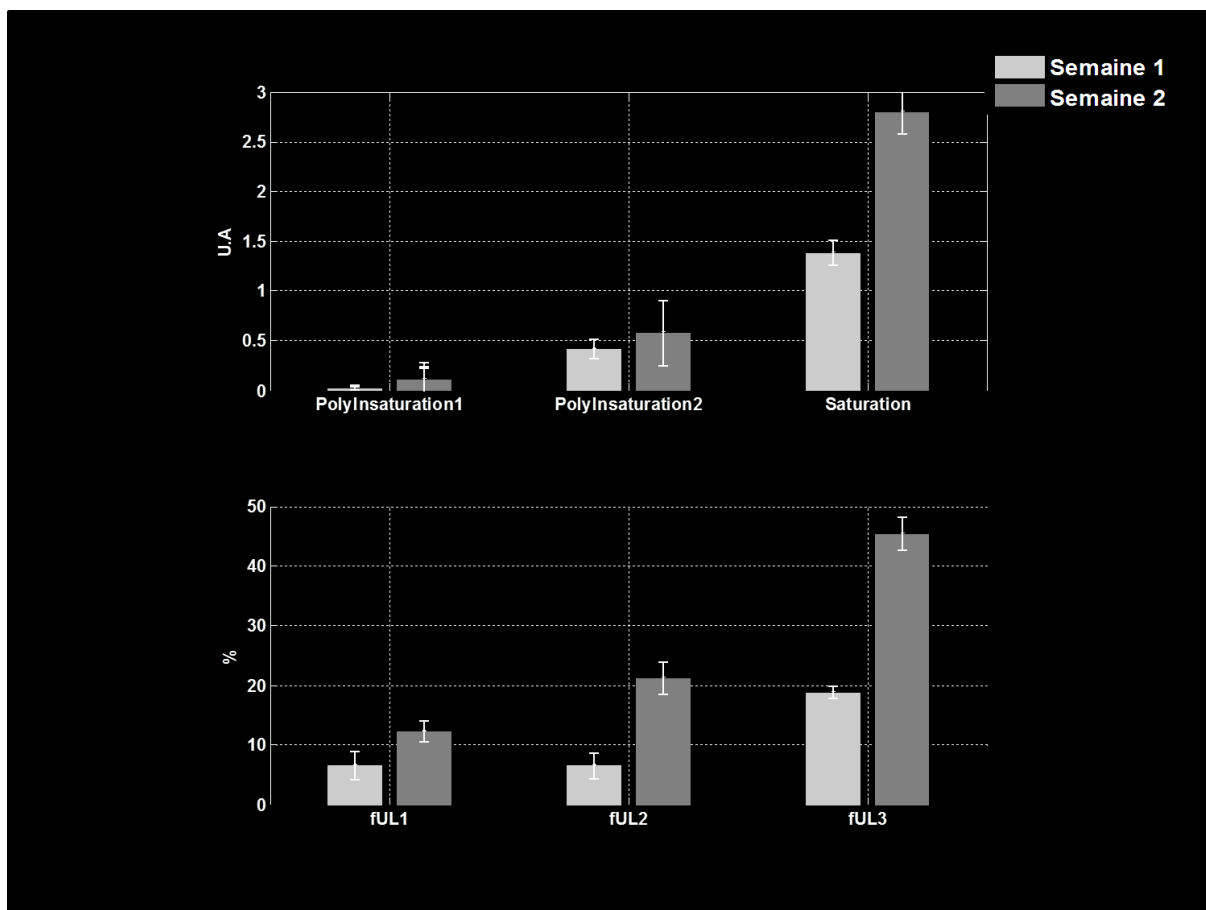


Figure 71 : Indices de la composition en triglycérides calculés à partir de la quantification des spectres LCOSY du tissu adipeux. La présence du groupement G, marqueur de la polyinsaturation permet le calcul de deux indices supplémentaire (polyinsaturation1 : 3/2 G/A et polyinsaturation2 : G/F).

2. Discussion/Conclusion

Contrairement au foie, la composition lipidique des tissus adipeux diffère de celle du foie, notamment en ce qui concerne l'insaturation et la présence d'eau. Les différents indices calculés mettent en évidence une accumulation de triglycérides dans les tissus adipeux, cohérent avec la prise de poids constatés. Les indices de polyinsaturation ont été calculés en utilisant les différentes définitions utilisant respectivement les rapports entre les groupements G, A et G, F. En termes de relaxation, les valeurs obtenues sont plus grandes que celles du foie. Le T2inh plus long est cohérent avec la diminution de la largeur à mi-hauteur et donc de l'inhomogénéité et le T2 mesuré correspond aux valeurs de la littérature [16][115] Ce dernier peut s'expliquer par la compartimentation des graisses qui est différente entre les tissus [116][117] : les hépatocytes sont des cellules petites qui ont une structure qui varie fortement en situation pathologique alors que les adipocytes sont des amas de graisse beaucoup plus homogène. Notons que le tissu adipeux peut être comprimé lors du placement du sujet dans l'antenne volumique, pouvant aussi changer ses propriétés. La

comparaison entre ces deux types de composition des triglycérides entre le foie et le tissu adipeux permet de mieux comprendre la distribution des triglycérides dans un processus pathologique : les triglycérides présent dans le foie sont principalement utilisés dans un processus métabolique long pour répondre à une demande de *stockage* d'énergie de l'organisme tandis que ceux du foie servent à une demande énergie ponctuelle et ont des processus plus rapide. Une déficience de ces voies métaboliques, comme dans notre modèle, permet de mieux comprendre ces différentes voies. À travers une étude plus poussée et une nombre plus important de sujet en comparaison à un modèle sain de contrôle, notre méthode a la potentialité d'apporter des résultats à la compréhension biologique du métabolisme des triglycérides.

VIII. Différentes tentatives

1. Une diminution du champ ?

Tout le long de ce chapitre, nous avons mené une étude afin d'étudier la possibilité de l'utilisation de la spectroscopie 2D comme moyen alternatif à la 1D pour l'étude de la composition des triglycérides du foie et des tissus sous cutanés. Cette étude préclinique a été menée à 7T afin d'obtenir une résolution suffisante sur les différentes contributions de triglycérides. Il existe des réalisations cliniques de la spectroscopie 1D dans l'étude de la composition du foie, mais ces dernières se limitent principalement aux principaux pics d'intérêt que sont le 1.3/0.9 et le pic de l'eau. Le pic de l'eau recouvre une partie importante des zones spectrales d'intérêt. La 2D apporte une réponse directe à ce souci de résolution. Afin d'explorer ce gain en résolution, un modèle murin de glycogénose (souris L-G6pc/-) a été acquis à un champ plus bas de 4.7T afin de valider la faisabilité et l'apport de la 2D, à bas champs et pour un modèle murin présentant un autre type de pathologie. Dans ces conditions, les phénomènes d'inhomogénéités seront plus simples à compenser, se traduisant par une largeur à mi-hauteur du pic de l'eau inférieure à celle mesurée à 7T. Deux souris L-G6pc/- ont été utilisés pour les acquisitions faite à l'aide de la séquence LCOSY. Les spectres obtenus ont une qualité suffisante pour repérer les principaux composants des triglycérides. Notons que dans ces spectres apparaissent des triglycérides à 4.1 et 4.2 ppm correspondant au groupement G apparaissant du fait du modèle de souris utilisés.

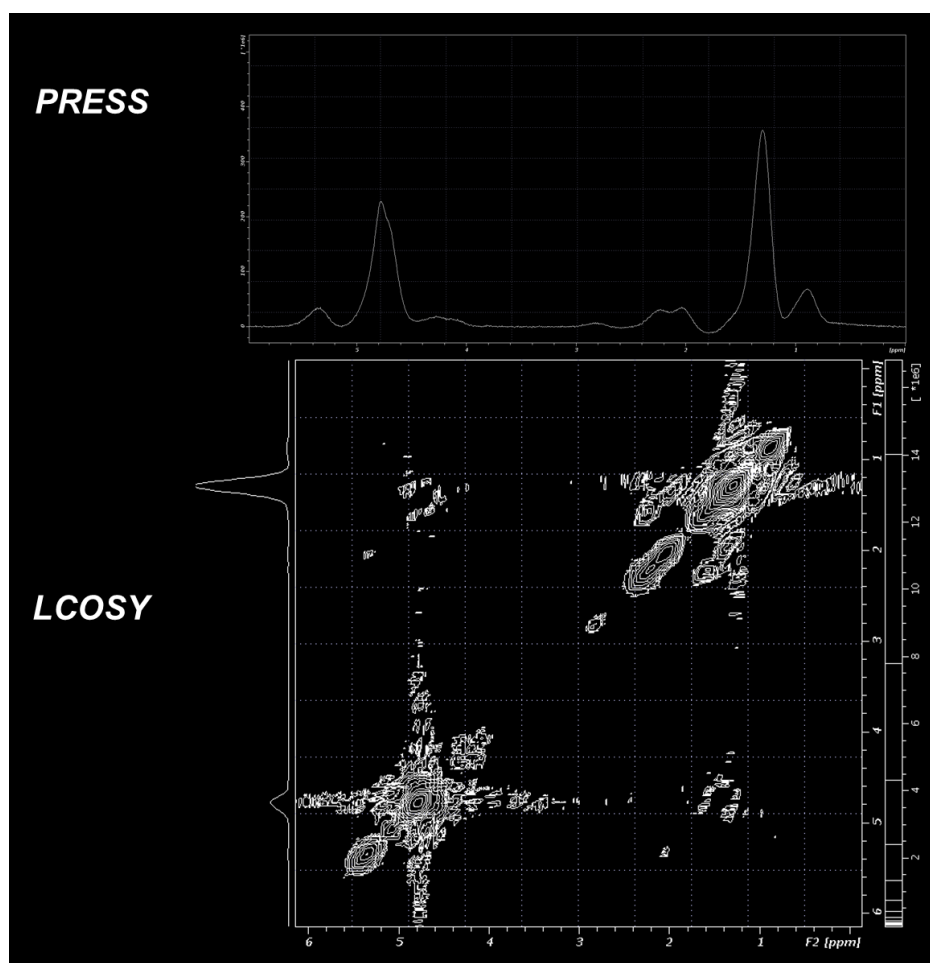


Figure 72 : Spectres acquis à 4.7T sur un modèle de souris de glycogénose. Le spectre LCOSY expose clairement des éléments supplémentaires, notamment le groupement attribué à G aux alentours de 4 ppm.

La grande résolution spectrale de la LCOSY comparé à la PRESS permet de supporter des conditions de shim dégradés tant en conservant un aspect quantitatif. Les différentes acquisitions présentées mettent en évidence cette propriété pour le foie notamment (Figure 57). Cette dégradation de shim est critique en situation clinique.

2. Une diminution du temps d'acquisition ?

L'un des principaux obstacles de la SRM2D in vivo est son long temps d'acquisition dû à la dimension indirecte. Des méthodes d'échantillonnages basé sur une approche de *compressed sensing* (ou acquisition comprimée) ont été montrées, notamment pour la JPRESS [51] et indiquent une perspective intéressante quant à l'amélioration du temps d'acquisition. L'approche *compressed sensing* consiste en la reconstruction d'un spectre complet à partir d'un nombre minimum d'information acquis. Cette dernière est très utilisée pour l'imagerie, notamment fonctionnelle [118], la plus utilisée étant l'imagerie par

acquisition spiralée de l'espace k [119]. En spectroscopie il existe des méthodes basées sur l'utilisation d'un schéma échantillonnage consistant à prendre un échantillonnage évoluant de façon exponentielle (méthode MaxEnt [120]). Ces techniques servent principalement à l'investigation métabolique. Des applications *in vivo* de ces techniques existent mais ne s'intéressent pas à l'aspect quantitatif de cette approche. Ces techniques d'échantillonnage irrégulier sont intéressantes pour réduire le temps d'acquisition, mais demande des compromis : l'échantillonnage irrégulier demande des conditions de répartition du signal dans le spectre et un choix aléatoire des points à échantillonner.

Récemment, Merhej *et al* [121] a introduit une méthode adaptée :

- à l'acquisition de spectre COSY haute résolution permettant de choisir les incréments en t_1 selon le choix de zones spectrales d'intérêt.
- à la reconstruction du signal irrégulièrement acquis

L'utilisation d'une telle méthode permet de reconstruire des spectres sous-échantillonnés contenant la même information qu'un spectre acquis échantillonné de manière régulière. Cette méthode repose sur le même principe que la reconstruction *compressed sensing* tout en permettant le choix d'un support fréquentiel d'intérêt augmentant par conséquent l'information accessible sur cette dernière. Dans cette partie, nous nous intéresserons à la possibilité d'utiliser cette méthode de choix d'échantillonnage dans notre cadre quantitatif. Pour cela, on utilisera un spectre acquis sur le tissu adipeux d'une souris dont on gardera les échantillons d'intérêt prédit par l'approche proposée.

a) Choix de l'échantillonnage

Le choix de l'échantillonnage a été réalisé en choisissant les zones fréquentielles d'intérêt dans le spectre. L'algorithme de reconstruction donne ensuite les pas en dimension indirecte à garder pour obtenir une reconstruction la plus fidèle possible. En fonction de la qualité de reconstruction désirée, ce nombre de pas varie ainsi que le gain au niveau du temps. Dans la suite, on parlera de taux de compression comme le rapport entre le nombre de ligne en t_1 d'un échantillonnage régulier et celui d'un échantillonnage irrégulier. Les zones d'intérêt choisies sont représentées dans la Figure 73. Le spectre est ensuite reconstruit à partir des échantillons gardés. Un taux de compression de 1.5 (128/85) a été testé.

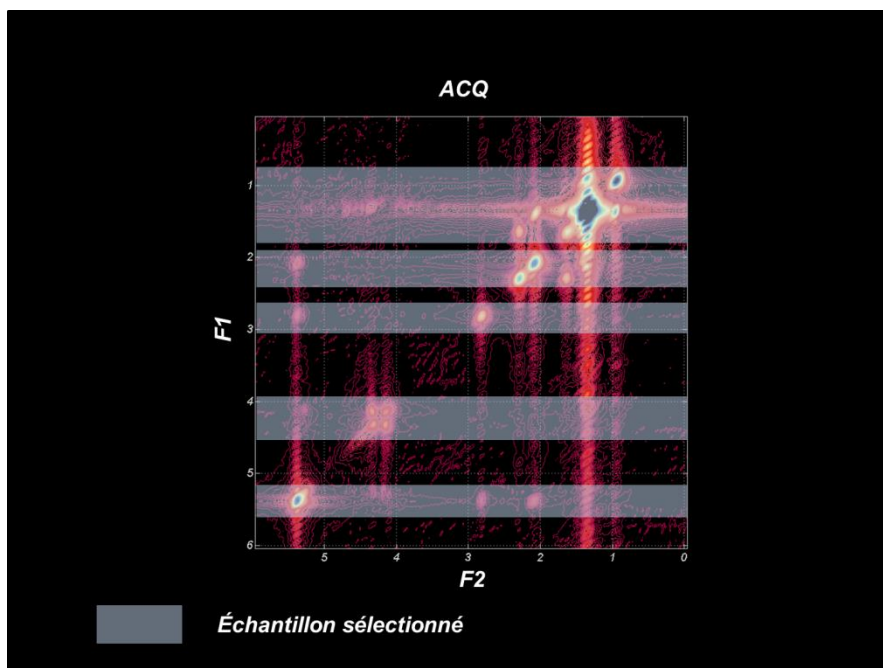


Figure 73 : a) Spectre 2D LCOSY des triglycérides du tissu adipeux *in vivo*. Les zones d'intérêts gardés dans le choix de l'échantillonnage irrégulier sont encadrées. b) Échantillonnage régulier sur 256 lignes en dimension indirectes (bleu) et obtenue avec l'algorithme de reconstruction (rouge) pour différent facteur de reconstruction (régulier/irrégulier).

La procédure de quantification est modifiée au niveau de la base de temps utilisé mais aussi de la base simulée. Cette dernière est simulée avec un échantillonnage régulier puis est rendu irrégulière en choisissant les pas en dimension indirecte choisis par l'algorithme d'échantillonnage irrégulier.

b) Essai sur une acquisition L-COSY des tissus adipeux

Un signal acquis sur les tissus adipeux a été rendu irrégulier en gardant les lignes t1 d'intérêt précédemment présenté en Figure 73b). La procédure de quantification utilisée a été adaptée et utilisée pour quantifier ce signal irrégulier. En Figure 74 sont présentés les différents résultats obtenus en comparaison d'une quantification sur le signal acquis régulier.

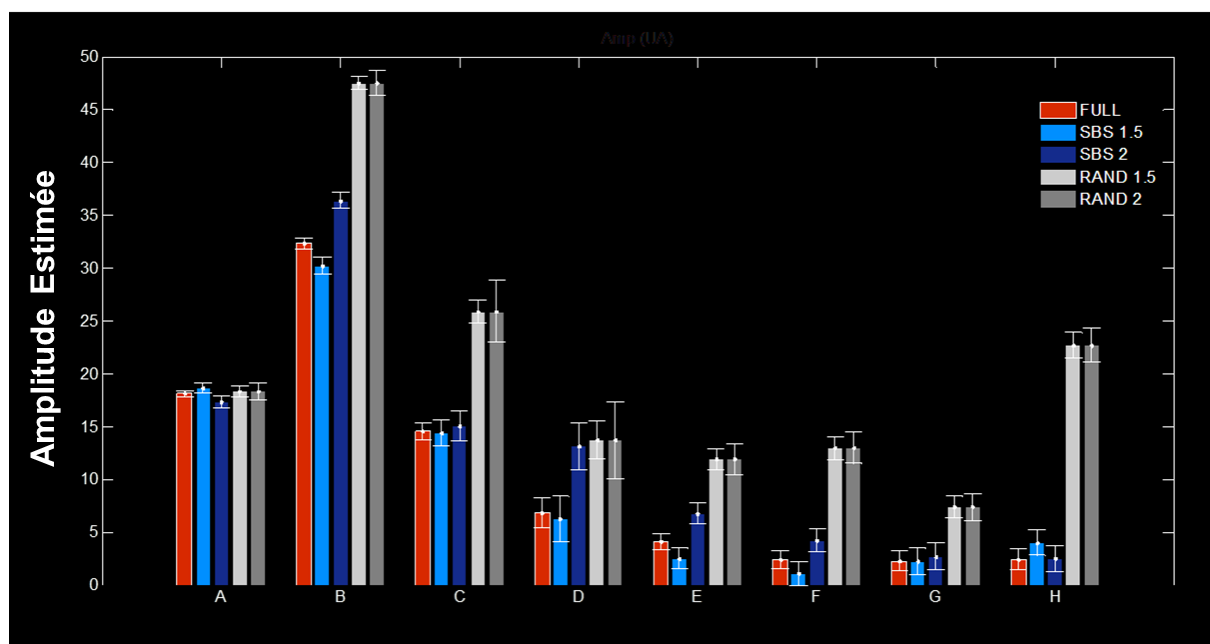


Figure 74 : Résultat de quantification pour chaque groupement sur un spectre LCOSY des triglycérides du tissu adipeux : comparaison entre une quantification sur un spectre ayant un échantillonnage régulier (FULL, en rouge) et irrégulier (NUS, en gris). Les bornes de cramer Rao ont été donnée estimées pour utilisées comme erreur relative.

c) Discussion/Conclusion

Nous avons montré l'utilisation d'un échantillonnage irrégulier adapté à la LCOSY. Son utilisation ne semble pas altérer la précision et l'estimation des paramètres par la procédure de quantification *adaptée*. En comparaison d'un échantillonnage aléatoire utilisé en *compressed sensing*, la méthode proposée semble meilleure sur l'estimation des différents groupements, mais certaines surestimations existent en fonction du facteur de compression (notamment pour les groupements D, E et F). Cette différence peut s'expliquer par le choix de l'échantillonnage privilégiant les premiers points temporels pour la méthode proposée et permettant une estimation plus restreintes des différentes valeurs de T2 des différents groupements. Différent facteur de compression sont possibles, permettant une réduction drastique du temps d'acquisition. Une réflexion sur la zone d'échantillonnage de la ligne indirecte couplée à cette méthode permettrait un gain plus drastique de temps d'acquisition. Pour confirmer ce gain, il faut cependant mettre en pratique cet échantillonnage irrégulier. La séquence LCOSY développée permet un tel échantillonnage mais n'a cependant pu être testé *in vivo*.

Conclusion

À travers une étude sur un modèle de souris obèse, nous avons montré la faisabilité de l'acquisition de spectres LCOSY dans le foie et les tissus adipeux. L'intérêt de la spectroscopie 2D a été montré : la grande résolution spectrale des spectres LCOSY permet d'identifier et de quantifier des résonances enchevêtrées en 1D (notamment dû à l'intensité du champ et à ses inhomogénéités).

L'utilisation d'une procédure de quantification opérant dans le domaine temporel afin d'estimer les contributions des différents groupements dans le spectre 2D est réalisable et permet d'obtenir une information plus précise sur leur contribution, en terme d'amplitude, mais aussi de leur valeur de T2. L'utilisation de notre procédure de quantification demande des ajustements du point de vue de la base simulée utilisée afin de permettre la quantification : les valeurs de couplage et de déplacement chimiques diffèrent des valeurs de la littérature. Cependant, ces dernières valeurs ne sont pas aussi étudiées que celles des métabolites cérébraux.

Les différents résultats obtenus semblent concorder avec les différentes études plus approfondies de la littérature. L'acquisition de la SRM 2D et le développement de la quantification dédié à l'étude des triglycérides *in vivo* ont été réalisés, il faut cependant vérifier la validité des résultats obtenus par notre méthode via une cohorte plus importante de souris et la comparer par rapport à des résultats obtenus via SRM 1D.

L'utilisation de cette séquence est possible pour des champs plus faibles et présente l'avantage d'une sensibilité moins importante aux inhomogénéités de champs par rapport à une séquence 1D, permettant une identification des différentes résonances de manière plus aisées.

Un échantillonnage irrégulier a été testé sur des acquisitions de tissus adipeux, la procédure de quantification adaptée permet une quantification de spectre acquis avec un tel schéma d'échantillonnage permettant une possible réduction du temps d'acquisition.

Conclusion générale et perspectives

Le travail effectué au cours de cette thèse, axée sur le développement de séquences et de méthode de quantification pour la spectroscopie de corrélation localisée à visée *in vivo*, a permis le développement des séquences LCOSY et L-CTCOSY et leurs applications. À travers différentes applications, l'intérêt de la spectroscopie 2D, et plus particulièrement de la LCOSY d'un point de vue de l'identification des composés et de leur quantification dans le spectre a été démontré.

La LCOSY et la LCTCOSY ont un handicap inhérent à leur motif de séquence : leur signal par unité de temps est beaucoup moins élevé qu'une séquence JPRESS. Le rapport de signal entre une séquence JPRESS et LCOSY/LCTCOSY est théoriquement de deux. Cependant, en pratique rapport tend à s'abaisser du fait du schéma de localisation et des impulsions utilisées. Une possibilité de gain de signal serait l'utilisation d'un autre motif de localisation de la LCOSY, en utilisant des techniques de saturation du volume extérieur ou utilisant des impulsions adiabatiques [122], proposant une solution à l'artefact de déplacement chimique. Aussi les séquences de corrélation laissent moins de latitude quant au choix du nombre d'incrémentes (dans un schéma d'échantillonnage régulier dans la dimension indirecte par rapport à la JPRESS. L'analyse de leurs performances quantitatives a été réalisée à travers une étude *in vitro* et via la théorie des Cramér Rao utilisant des simulations par mécanique quantique des signaux générés par ces séquences. Il a ; cependant, été démontré que la quantification LCOSY peut présenter, en théorie et pour certains métabolites couplés (e.g. GABA, Gln) des CRBs plus faibles que celles obtenues pour la quantification JPRESS, pour des conditions de temps d'acquisition équivalentes. Ce résultat est valide dans le cas d'estimateur efficace ; en pratique l'algorithme de minimisation utilisé, sa convergence, le modèle utilisé et la qualité du spectre acquis peuvent induire des biais de quantification et s'éloigner du cadre théorique de l'application des bornes de Cramér Rao. Du point de vue de la quantification la LCTCOSY est désavantagée par une la forte pondération en T2 dû à la constante de temps constant (>70ms). Cependant, l'usage de cette constante de temps présente un intérêt dans l'étude de systèmes couplés tel le GABA, le Gln et Glu qui n'a pas été complètement exploré.

La mise en place de notre procédure de quantification s'est effectuée dans le prolongement des méthodes existantes : à savoir une optimisation non linéaire des paramètres d'un signal modèle décrivant un signal acquis. Cette approche peut être améliorée par l'usage d'algorithme génétique généralisé. Notre approche multi itérative avec des contraintes présentée en chapitre 3 est proche d'un algorithme génétique dans le sens où les paramètres très éloignés de la solution sont pénalisés fortement, dans un algorithme génétique l'approche est similaire : le paramètre trouvé ne satisfaisant pas le critère

d'optimum aura sa *lignée* pénalisé et à force d'itération une solution optimale est obtenue. Notre approche quantitative se base sur un modèle paramétrique où les phénomènes de relaxation ont été simplifiés en une pondération de forme exponentielle décroissante affectant de la même façon tout un système de spins couplés ou non. Or il est possible de simuler les différents effets dus à la relaxation des différents spins de notre spectre avec SPINACH en incluant une matrice de relaxation par système de spins et être plus prêt de la physique du signal. L'optimisation se fera alors via une approche de *dictionnaire*, c'est-à-dire avec la génération de plusieurs matrices de relaxation alimentant la base de connaissance a priori.

L'un des principaux défauts de la spectroscopie 2D est son temps d'acquisition. Ce dernier est dépendant de la dimension indirecte à encoder. Il existe des méthodes d'acquisition dite *ultrarapide* permettant l'acquisition d'un spectre 2D en quelques secondes [52][123]. Ces méthodes récentes commencent à être étudié plus en détail, notamment pour leur application *in vivo* [53]. L'un des principaux barrages à ces séquences est leur rapport signal à bruit très faibles. L'utilisation de technique d'hyperpolarisation permettrait de franchir cet obstacle. Ces méthodes demandent encore beaucoup de réflexion et de travail avant une application *in vivo*. Il existe un moyen exposé au chapitre 4, permettant une réduction du temps d'acquisition en limitant le nombre d'incrément à utiliser en 2D : les techniques d'encodage irrégulier ou NUS (non uniforme sampling). Ces techniques sont prometteuses car demandent peu de développement de séquence spécifique. De plus, nous avons montré que la LCOSY en NUS est quantifiable sans modification profonde de notre procédure de quantification. Pour ce qui est des méthodes *ultrarapides* et/ou utilisant l'hyperpolarisation, une méthode spécifique de quantification, différente de l'approche présentée ici doit être développée.

Les résultats obtenus *in vivo* semblent cohérents avec la littérature mais doivent encore être éprouvés via une étude quantitative à plus grande échelle, comme cela a été réalisé pour les différents algorithmes de quantification utilisés en clinique tel LCModel, Tarquin, ProFit.

Nous avons vu qu'en plus de l'utilisation pour l'exploration du métabolisme cérébral, l'utilisation de la SRM 2D, notamment la LCOSY apportait une contribution significative à l'exploration et quantification des lipides du foie et des tissus adipeux sous cutanés. Récemment, le groupe de M. Albert Thomas (UCLA, Department of Radiology) a exploré les possibilités offertes par cette séquence pour son application clinique pour d'autres organes : le sein [124] , le muscle [125] , la prostate [126] et récemment la vésicule biliaire[127]. Ces études démontrent tous les avantages la LCOSY pour l'identification des différents métabolites et leur rôle dans le métabolisme. À cette identification, une procédure de

quantification dédiée, comme celle présentée dans cette thèse, apporterait beaucoup au déploiement de cette technique dans un cadre de recherche clinique in vivo.

Références Bibliographiques

- [1] S. MacKay, F. Ezekiel, V. Di Sclafani, D. J. Meyerhoff, J. Gerson, D. Norman, G. Fein, and M. W. Weiner, "Alzheimer disease and subcortical ischemic vascular dementia: evaluation by combining MR imaging segmentation and ^1H MR spectroscopic imaging," *Radiology*, vol. 198, no. 2, pp. 537–545, Feb. 1996.
- [2] T. N. Kreis, T. Tothaker, S. Karimi, and L. M. DeAngelis, "Ischemic stroke in patients with primary brain tumors," *Neurology*, vol. 70, no. 24, pp. 2314–2320, Jun. 2008.
- [3] J. H. Callicott, A. Bertolino, M. F. Egan, V. S. Mattay, F. J. P. Langheim, and D. R. Weinberger, "Selective Relationship Between Prefrontal N-Acetylaspartate Measures and Negative Symptoms in Schizophrenia," *Am. J. Psychiatry*, vol. 157, no. 10, pp. 1646–1651, Oct. 2000.
- [4] P. Davanzo, K. Yue, M. A. Thomas, T. Belin, J. Mintz, T. N. Venkatraman, E. Santoro, S. Barnett, and J. McCracken, "Proton Magnetic Resonance Spectroscopy of Bipolar Disorder Versus Intermittent Explosive Disorder in Children and Adolescents," *Am. J. Psychiatry*, vol. 160, no. 8, pp. 1442–1452, Aug. 2003.
- [5] G. Hamilton, T. Yokoo, M. Bydder, I. Cruite, M. E. Schroeder, C. B. Sirlin, and M. S. Middleton, "In vivo characterization of the liver fat ^1H MR spectrum," *NMR Biomed.*, vol. 24, no. 7, pp. 784–790, Aug. 2011.
- [6] J. J. Prompers, J. A. L. Jeneson, M. R. Drost, C. C. W. Oomens, G. J. Strijkers, and K. Nicolay, "Dynamic MRS and MRI of skeletal muscle function and biomechanics," *NMR Biomed.*, vol. 19, no. 7, pp. 927–953, Nov. 2006.
- [7] U. G. Mueller-Lisse and M. K. Scherr, "Proton MR spectroscopy of the prostate," *Eur. J. Radiol.*, vol. 63, no. 3, pp. 351–360, Sep. 2007.
- [8] D. S. Aaronson, T. J. Walsh, R. Iman, P. J. Turek, and J. Kurhanewicz, "A NOVEL APPLICATION OF ^1H MAGNETIC RESONANCE SPECTROSCOPY: POTENTIAL FOR NON-INVASIVE IDENTIFICATION OF SPERMATOGENESIS IN MEN WITH NON-OBSTRUCTIVE AZOOSPERMIA," *J. Urol.*, vol. 181, no. 4, Supplement, pp. 785–786, Apr. 2009.
- [9] J.-B. Pouillet, D. M. Sima, and S. Van Huffel, "MRS signal quantitation: a review of time- and frequency-domain methods," *J Magn Reson*, vol. 195, no. 2, pp. 134–144, Dec. 2008.
- [10] Roussel, T., "Développements de méthodes de traitement et d'acquisition du signal pour la Spectroscopie de Résonance Magnétique 2D in vivo," Université Lyon 1, 2012.
- [11] M. A. Thomas, N. Binesh, K. Yue, and N. DeBruhl, "Volume-localized two-dimensional correlated magnetic resonance spectroscopy of human breast cancer," *J Magn Reson Imaging*, vol. 14, no. 2, pp. 181–186, Aug. 2001.
- [12] H. Watanabe, N. Takaya, and F. Mitsumori, "Simultaneous observation of glutamate, gamma-aminobutyric acid, and glutamine in human brain at 4.7 T using localized two-dimensional constant-time correlation spectroscopy," *NMR Biomed*, vol. 21, no. 5, pp. 518–526, 2008.
- [13] H. Ratiney, M. Sdika, Y. Coenradie, S. Cavassila, D. van Ormondt, and D. Graveron-Demilly, "Time-domain semi-parametric estimation based on a metabolite basis set," *NMR Biomed*, vol. 18, no. 1, pp. 1–13, Feb. 2005.
- [14] H. J. Hogben, M. Krzystyniak, G. T. P. Charnock, P. J. Hore, and I. Kuprov, "Spinach--a software library for simulation of spin dynamics in large spin systems," *J. Magn. Reson. San Diego Calif 1997*, vol. 208, no. 2, pp. 179–194, Feb. 2011.

- [15] N. Ramamonjisoa, H. Ratiney, E. Mutel, H. Guillou, G. Mithieux, F. Pilleul, F. Rajas, O. Beuf, and S. Cavassila, "In vivo hepatic lipid quantification using MRS at 7 Tesla in a mouse model of glycogen storage disease type 1a," *J. Lipid Res.*, vol. 54, no. 7, pp. 2010–2022, Jul. 2013.
- [16] Q. Ye, C. F. Danzer, A. Fuchs, C. Wolfrum, and M. Rudin, "Hepatic lipid composition differs between ob/ob and ob/+ control mice as determined by using in vivo localized proton magnetic resonance spectroscopy," *Magn. Reson. Mater. Phys. Biol. Med.*, vol. 25, no. 5, pp. 381–389, Oct. 2012.
- [17] E. M. Purcell, H. C. Torrey, and R. V. Pound, "Resonance Absorption by Nuclear Magnetic Moments in a Solid," *Phys. Rev.*, vol. 69, no. 1–2, pp. 37–38, Jan. 1946.
- [18] F. Bloch, W. W. Hansen, and M. Packard, "Nuclear Induction," *Phys. Rev.*, vol. 69, no. 3–4, pp. 127–127, Feb. 1946.
- [19] E. L. Hahn, "Spin echoes," *Phys Rev*, vol. 80, no. 4, pp. 580–594, Nov. 1950.
- [20] W. C. Dickinson, "Dependence of the F19 Nuclear Resonance Position on Chemical Compound," *Phys. Rev.*, vol. 77, no. 5, pp. 736–737, Mar. 1950.
- [21] P. Mansfield, "Multi-planar image formation using NMR spin echoes," *J. Phys. C Solid State Phys.*, vol. 10, no. 3, p. L55, 1977.
- [22] R. Gabillard, "Théorie et mesure des temps de relaxation en résonance paramagnétique nucléaire," 1952.
- [23] A. Ziegler, M. von Kienlin, M. Décorps, and C. Rémy, "High glycolytic activity in rat glioma demonstrated in vivo by correlation peak ^1H magnetic resonance imaging," *Cancer Res*, vol. 61, no. 14, pp. 5595–5600, Jul. 2001.
- [24] A. Ziegler, M. Izquierdo, C. Remy, and M. Decorps, "Optimization of Homonuclear Two-Dimensional Correlation Methods for in Vivo and ex Vivo NMR," *J. Magn. Reson.*, vol. 107, pp. 10–18, 1995.
- [25] M. A. Thomas, N. Hattori, M. Umeda, T. Sawada, and S. Naruse, "Evaluation of two-dimensional L-COSY and JPRESS using a 3 T MRI scanner: from phantoms to human brain in vivo," *NMR Biomed*, vol. 16, no. 5, pp. 245–251, Aug. 2003.
- [26] M. A. Thomas, T. Lange, S. S. Velan, R. Nagarajan, S. Raman, A. Gomez, D. Margolis, S. Swart, R. R. Raylman, R. F. Schulte, and P. Boesiger, "Two-dimensional MR spectroscopy of healthy and cancerous prostates in vivo," *MAGMA*, vol. 21, no. 6, pp. 443–458, Nov. 2008.
- [27] I. I. Rabi and V. W. Cohen, "The Nuclear Spin of Sodium," *Phys. Rev.*, vol. 43, no. 7, pp. 582–583, Apr. 1933.
- [28] H. C. Torrey, "Transient Nutations in Nuclear Magnetic Resonance," *Phys. Rev.*, vol. 76, no. 8, pp. 1059–1068, Oct. 1949.
- [29] M. E. Henry, T. L. Lauriat, M. Shanahan, P. F. Renshaw, and J. E. Jensen, "Accuracy and stability of measuring GABA, glutamate, and glutamine by proton magnetic resonance spectroscopy: a phantom study at 4 Tesla," *J Magn Reson*, vol. 208, no. 2, pp. 210–218, Feb. 2011.
- [30] U. Seeger, I. Mader, T. Nägele, W. Grodd, O. Lutz, and U. Klose, "Reliable detection of macromolecules in single-volume ^1H NMR spectra of the human brain," *Magn Reson Med*, vol. 45, no. 6, pp. 948–954, Jun. 2001.
- [31] U. Seeger, U. Klose, I. Mader, W. Grodd, and T. Nägele, "Parameterized evaluation of macromolecules and lipids in proton MR spectroscopy of brain diseases," *Magn Reson Med*, vol. 49, no. 1, pp. 19–28, Jan. 2003.

- [32] N. Bottomley, Paul A. (Clifton Park, "Selective volume method for performing localized NMR spectroscopy," no. 4480228, Oct. 1984.
- [33] A. Lin, B. D. Ross, K. Harris, and W. Wong, "Efficacy of Proton Magnetic Resonance Spectroscopy in Neurological Diagnosis and Neurotherapeutic Decision Making," *NeuroRx*, vol. 2, no. 2, pp. 197–214, Apr. 2005.
- [34] E. Scheurer, M. Ith, D. Dietrich, R. Kreis, J. Hüsler, R. Dirnhofer, and C. Boesch, "Statistical evaluation of time-dependent metabolite concentrations: estimation of post-mortem intervals based on in situ ^1H -MRS of the brain," *NMR Biomed.*, vol. 18, no. 3, pp. 163–172, May 2005.
- [35] R. Kreis, L. Hofmann, B. Kuhlmann, C. Boesch, E. Bossi, and P. S. Hüppi, "Brain metabolite composition during early human brain development as measured by quantitative in vivo ^1H magnetic resonance spectroscopy," *Magn. Reson. Med. Off. J. Soc. Magn. Reson. Med. Soc. Magn. Reson. Med.*, vol. 48, no. 6, pp. 949–958, Dec. 2002.
- [36] R. Kreis, T. Ernst, and B. D. Ross, "Development of the human brain: in vivo quantification of metabolite and water content with proton magnetic resonance spectroscopy," *Magn. Reson. Med. Off. J. Soc. Magn. Reson. Med. Soc. Magn. Reson. Med.*, vol. 30, no. 4, pp. 424–437, Oct. 1993.
- [37] A. C. Hsu and M. J. Dawson, "Accuracy of ^1H and ^{31}P MRS analyses of lactate in skeletal muscle," *Magn. Reson. Med. Off. J. Soc. Magn. Reson. Med. Soc. Magn. Reson. Med.*, vol. 44, no. 3, pp. 418–426, Sep. 2000.
- [38] V. Mlynárik, C. Cudalbu, L. Xin, and R. Gruetter, " ^1H NMR spectroscopy of rat brain in vivo at 14.1 Tesla: improvements in quantification of the neurochemical profile," *J Magn Reson*, vol. 194, no. 2, pp. 163–168, Oct. 2008.
- [39] J. Pfeuffer, I. Tkáč, S. W. Provencher, and R. Gruetter, "Toward an in vivo neurochemical profile: quantification of 18 metabolites in short-echo-time ^1H NMR spectra of the rat brain," *J Magn Reson*, vol. 141, no. 1, pp. 104–120, Nov. 1999.
- [40] W. P. Aue, E. Bartholdi, and R. R. Ernst, "Two-dimensional spectroscopy. Application to nuclear magnetic resonance," *J Chem Phys*, vol. 64, no. 5, pp. 2229–2246, 1976.
- [41] B. Barrère, M. Peres, B. Gillet, S. Mergui, J. C. Beloeil, and J. Seylaz, "2D COSY ^1H NMR: a new tool for studying in situ brain metabolism in the living animal," *FEBS Lett*, vol. 264, no. 2, pp. 198–202, May 1990.
- [42] K. L. Behar and T. Ogino, "Assignment of resonance in the ^1H spectrum of rat brain by two-dimensional shift correlated and J-resolved NMR spectroscopy," *Magn Reson Med*, vol. 17, no. 2, pp. 285–303, Feb. 1991.
- [43] L. N. Ryner, J. A. Sorenson, and M. A. Thomas, "3D Localized 2D NMR-spectroscopy on a MRI scanner," *J. Magn. Reson. B*, vol. 107, no. 2, pp. 126–137, 1995.
- [44] null Sébrié, B. Gillet, J. P. Lefaucheur, A. Sébille, and J. C. Beloeil, "Mouse muscle regeneration: an in vivo 2D ^1H magnetic resonance spectroscopy (MRS) study," *FEBS Lett.*, vol. 423, no. 1, pp. 71–74, Feb. 1998.
- [45] F. Delmas, J. C. Beloeil, B. P. van der Sanden, K. Nicolay, and B. Gillet, "Two-voxel localization sequence for in vivo two-dimensional homonuclear correlation spectroscopy," *J Magn Reson*, vol. 149, no. 1, pp. 119–125, Mar. 2001.
- [46] N. Binesh, K. Yue, L. Fairbanks, and M. A. Thomas, "Reproducibility of localized 2D correlated MR spectroscopy," *Magn Reson Med*, vol. 48, no. 6, pp. 942–948, Dec. 2002.

- [47] R. F. Schulte, T. Lange, J. Beck, D. Meier, and P. Boesiger, "Improved two-dimensional J-resolved spectroscopy," *NMR Biomed*, vol. 19, no. 2, pp. 264–270, Apr. 2006.
- [48] L. N. Ryner, J. A. Sorenson, and M. A. Thomas, "Localized 2D J-resolved ^1H MR spectroscopy: strong coupling effects in vitro and in vivo," *Magn Reson Imaging*, vol. 13, no. 6, pp. 853–869, 1995.
- [49] M. A. McLean, T. Barrett, V. J. Gnanapragasam, A. N. Priest, I. Joubert, D. J. Lomas, D. E. Neal, J. R. Griffiths, and E. Sala, "Prostate cancer metabolite quantification relative to water in ^1H -MRSI in vivo at 3 Tesla," *Magn Reson Med*, vol. 65, no. 4, pp. 914–919, Apr. 2011.
- [50] R. A. Chylla, K. Hu, J. J. Ellinger, and J. L. Markley, "Deconvolution of two-dimensional NMR spectra by fast maximum likelihood reconstruction: application to quantitative metabolomics," *Anal Chem*, vol. 83, no. 12, pp. 4871–4880, Jun. 2011.
- [51] J. K. Furuyama, N. E. Wilson, B. L. Burns, R. Nagarajan, D. J. Margolis, and M. A. Thomas, "Application of compressed sensing to multidimensional spectroscopic imaging in human prostate," *Magn. Reson. Med. Off. J. Soc. Magn. Reson. Med. Soc. Magn. Reson. Med.*, vol. 67, no. 6, pp. 1499–1505, Jun. 2012.
- [52] L. Frydman, T. Scherf, and A. Lupulescu, "The acquisition of multidimensional NMR spectra within a single scan," *Proc Natl Acad Sci USA*, vol. 99, no. 25, pp. 15858–15862, Dec. 2002.
- [53] T. Roussel, P. Giraudeau, H. Ratiney, S. Akoka, and S. Cavassila, "3D localized 2D ultrafast J-resolved magnetic resonance spectroscopy: in vitro study on a 7T imaging system," *J Magn Reson*, vol. 215, pp. 50–55, Feb. 2012.
- [54] Y. Lin, Q. Zhang, Z. Wei, S. Cai, J. Zhong, and Z. Chen, "Ultrafast localized two-dimensional magnetic resonance correlated spectroscopy via spatially encoded technique," *Magn. Reson. Med.*, vol. 71, no. 3, pp. 903–910, Mar. 2014.
- [55] R. A. Meyer, M. J. Fisher, S. J. Nelson, and T. R. Brown, "Evaluation of manual methods for integration of in vivo phosphorus NMR spectra," *NMR Biomed.*, vol. 1, no. 3, pp. 131–135, Jun. 1988.
- [56] S. Y. Kung, K. S. Arun, and D. V. B. Rao, "State-space and singular-value decomposition-based approximation methods for the harmonic retrieval problem," *J. Opt. Soc. Am.*, vol. 73, no. 12, pp. 1799–1811, Dec. 1983.
- [57] W. W. F. Pijnappel, A. van den Boogaart, R. de Beer, and D. van Ormondt, "SVD-based quantification of magnetic resonance signals," *J. Magn. Reson.* 1969, vol. 97, no. 1, pp. 122–134, Mar. 1992.
- [58] G. H. Golub and V. Pereyra, "The differentiation of pseudo-inverses and nonlinear least squares problems whose variables separate," *SIAM J. Numer. Anal.*, vol. 10, no. 2, pp. 413–432, 1973.
- [59] null Vanhamme, null van den Boogaart A, and null Van Huffel S, "Improved method for accurate and efficient quantification of MRS data with use of prior knowledge," *J. Magn. Reson. San Diego Calif 1997*, vol. 129, no. 1, pp. 35–43, Nov. 1997.
- [60] S. W. Provencher, "Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra," *Magn Reson Med*, vol. 30, no. 6, pp. 672–679, Dec. 1993.
- [61] M. Wilson, G. Reynolds, R. A. Kauppinen, T. N. Arvanitis, and A. C. Peet, "A constrained least-squares approach to the automated quantitation of in vivo ^1H magnetic resonance spectroscopy data," *Magn Reson Med*, vol. 65, no. 1, pp. 1–12, Jan. 2011.
- [62] R. Kreis, "Issues of spectral quality in clinical ^1H -magnetic resonance spectroscopy and a gallery of artifacts," *NMR Biomed*, vol. 17, no. 6, pp. 361–381, Oct. 2004.

- [63] R. Nagarajan, M. K. Sarma, A. D. Thames, S. A. Castellon, C. H. Hinkin, and M. A. Thomas, "2D MR Spectroscopy Combined with Prior-Knowledge Fitting Is Sensitive to HCV-Associated Cerebral Metabolic Abnormalities," *Int. J. Hepatol.*, vol. 2012, pp. 1–6, 2012.
- [64] J. C. Cobas and F. J. Sardina, "Nuclear magnetic resonance data processing. MestRe-C: A software package for desktop computers," *Concepts Magn. Reson. Part A*, vol. 19A, no. 2, pp. 80–96, Jan. 2003.
- [65] R. de Beer, D. van Ormondt, and W. W. F. Pijnappel, "Quantification of 1-D and 2-D magnetic resonance time domain signals," *Pure Appl Chem*, vol. 64, no. 6, pp. 815–823, 1992.
- [66] S. Cavassila, S. Deval, C. Huegen, D. van Ormondt, and D. Graveron-Demilly, "Cramér-Rao bounds: an evaluation tool for quantitation," *NMR Biomed*, vol. 14, no. 4, pp. 278–283, Jun. 2001.
- [67] C. S. Bolliger, C. Boesch, and R. Kreis, "On the use of Cramér-Rao minimum variance bounds for the design of magnetic resonance spectroscopy experiments," *NeuroImage*, vol. 83, pp. 1031–1040, Dec. 2013.
- [68] R. F. Schulte and P. Boesiger, "ProFit: two-dimensional prior-knowledge fitting of J-resolved spectra," *NMR Biomed*, vol. 19, no. 2, pp. 255–263, Apr. 2006.
- [69] O. W. Sørensen, G. W. Eich, M. H. Levitt, G. Bodenhausen, and R. R. Ernst, "Product operator formalism for the description of NMR pulse experiments," *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*, vol. 16, pp. 163–192, 1984.
- [70] D. P. Goldenberg, "The product operator formalism: A physical and graphical interpretation," *Concepts Magn. Reson. Part A*, vol. 36A, no. 2, pp. 49–83, 2010.
- [71] E. Schrödinger, "An Undulatory Theory of the Mechanics of Atoms and Molecules," *Phys. Rev.*, vol. 28, no. 6, pp. 1049–1070, Dec. 1926.
- [72] M. Goldman, *Quantum description of high resolution NMR in liquids*. Oxford; New York: Clarendon Press ; Oxford University Press, 1988.
- [73] M. A. Howarth, L. Y. Lian, G. E. Hawkes, and K. D. Sales, "Formalisms for the description of multiple-pulse NMR experiments," *J. Magn. Reson.* 1969, vol. 68, no. 3, pp. 433–452, Jul. 1986.
- [74] P. Guntert, N. Schaefer, G. Otting, and K. Wuthrich, "POMA: A Complete Mathematica Implementation of the NMR Product-Operator Formalism," *J. Magn. Reson. A*, vol. 101, no. 1, pp. 103–105, Jan. 1993.
- [75] A. Jerschow, "MathNMR: Spin and spatial tensor manipulations in Mathematica," *J. Magn. Reson.*, vol. 176, no. 1, pp. 7–14, Sep. 2005.
- [76] S. A. Smith, T. O. Levante, B. H. Meier, and R. R. Ernst, "Computer simulations in magnetic resonance. An object-oriented programming approach," *J. Magn. Reson. A*, vol. 106, no. 1, pp. 75 – 105, 1994.
- [77] M. Bak, J. T. Rasmussen, and N. C. Nielsen, "SIMPSON: A General Simulation Program for Solid-State NMR Spectroscopy," *J. Magn. Reson.*, vol. 147, no. 2, pp. 296–330, Dec. 2000.
- [78] "SpinDynamica » NMR Calculation and Simulation in Mathematica." .
- [79] M. Veshtort and R. G. Griffin, "SPINEVOLUTION: a powerful tool for the simulation of solid and liquid state NMR experiments," *J. Magn. Reson. San Diego Calif 1997*, vol. 178, no. 2, pp. 248–282, Feb. 2006.

- [80] I. Kuprov, N. Wagner-Rundell, and P. J. Hore, "Polynomially scaling spin dynamics simulation algorithm based on adaptive state space restriction," *J. Magn. Reson.*, vol. 189, no. 2, pp. 241–250, Dec. 2007.
- [81] N. Braakman, T. Oerther, H. J. M. de Groot, and A. Alia, "High resolution localized two-dimensional MR spectroscopy in mouse brain in vivo," *Magn Reson Med*, vol. 60, no. 2, pp. 449–456, Aug. 2008.
- [82] P. Giraudeau, I. Tea, G. S. Remaud, and S. Akoka, "Reference and normalization methods: Essential tools for the intercomparison of NMR spectra," *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 93, pp. 3–16, May 2014.
- [83] L. N. Ryner, J. A. Sorenson, and M. A. Thomas, "3D localized 2D NMR spectroscopy on an MRI scanner," *J. Magn. Reson. B*, vol. 107, no. 2, pp. 126–137, May 1995.
- [84] R. E. Hurd, "Gradient-enhanced spectroscopy," *J. Magn. Reson.* 1969, vol. 87, no. 2, pp. 422–428, Apr. 1990.
- [85] K. Chandrasekhar and A. Kumar, "Optimization of SUPER COSY pulse scheme of two-dimensional correlation spectroscopy," *J. Magn. Reson.* 1969, vol. 73, no. 3, pp. 417–422, Jul. 1987.
- [86] B. Gillet, S. Mergui, J. C. Beloeil, J. Champagnat, G. Fortin, and T. Jacquin, "1H COSY spectra of superfused brain slices of rat: ex vivo direct assignment of resonances," *Magn. Reson. Med. Off. J. Soc. Magn. Reson. Med. Soc. Magn. Reson. Med.*, vol. 11, no. 3, pp. 288–294, Sep. 1989.
- [87] R. A. E. Edden and P. B. Barker, "If J doesn't evolve, it won't J-resolve: J-PRESS with bandwidth-limited refocusing pulses," *Magn Reson Med*, vol. 65, no. 6, pp. 1509–1514, Jun. 2011.
- [88] T. Lange, U. Dydak, T. P. L. Roberts, H. A. Rowley, M. Bjeljac, and P. Boesiger, "Pitfalls in Lactate Measurements at 3T," *Am. J. Neuroradiol.*, vol. 27, no. 4, pp. 895–901, Apr. 2006.
- [89] W.-I. Jung, M. Bunse, and O. Lutz, "Quantitative Evaluation of the Lactate Signal Loss and Its Spatial Dependence in PRESS Localized 1H NMR Spectroscopy," *J. Magn. Reson.*, vol. 152, no. 2, pp. 203–213, Oct. 2001.
- [90] C. T. W. Moonen, M. V. Kienlin, P. C. M. Van Zijl, J. Cohen, J. Gillen, P. Daly, and G. Wolf, "Comparison of single-shot localization methods (steam and press) for In vivo proton NMR spectroscopy," *NMR Biomed.*, vol. 2, no. 5–6, pp. 201–208, 1989.
- [91] S. Kanayamay, S. Kuhara, and K. Satoh, "In vivo rapid magnetic field measurement and shimming using single scan differential phase mapping," *Magn. Reson. Med.*, vol. 36, no. 4, pp. 637–642, Oct. 1996.
- [92] R. Gruetter and C. Boesch, "Fast, noniterative shimming of spatially localized signals. In vivo analysis of the magnetic field along axes," *J. Magn. Reson.* 1969, vol. 96, no. 2, pp. 323 – 334, 1992.
- [93] M. A. Thomas, K. Yue, N. Binesh, P. Davanzo, A. Kumar, B. Siegel, M. Frye, J. Curran, R. Lufkin, P. Martin, and B. Guze, "Localized two-dimensional shift correlated MR spectroscopy of human brain," *Magn Reson Med*, vol. 46, no. 1, pp. 58–67, Jul. 2001.
- [94] R. A. de Graaf, *In Vivo NMR Spectroscopy: Principles and Techniques*. John Wiley & Sons, 2008.
- [95] V. Govindaraju, K. Young, and A. A. Maudsley, "Proton NMR chemical shifts and coupling constants for brain metabolites," *NMR Biomed*, vol. 13, no. 3, pp. 129–153, May 2000.

- [96] A. A. Maudsley, V. Govindaraju, K. Young, Z. K. Aygula, P. M. Pattany, B. J. Soher, and G. B. Matson, "Numerical simulation of PRESS localized MR spectroscopy," *J Magn Reson*, vol. 173, no. 1, pp. 54–63, Mar. 2005.
- [97] P. Daga, T. Pendse, M. Modat, M. White, L. Mancini, G. P. Winston, A. W. McEvoy, J. Thornton, T. Yousry, I. Drobnyak, J. S. Duncan, and S. Ourselin, "Susceptibility artefact correction using dynamic graph cuts: Application to neurosurgery," *Med. Image Anal.*, vol. 18, no. 7, pp. 1132–1142, Oct. 2014.
- [98] L. Hofmann, J. Slotboom, B. Jung, P. Maloca, C. Boesch, and R. Kreis, "Quantitative ^1H -magnetic resonance spectroscopy of human brain: influence of composition and parameterization of the basis set in linear combination model-fitting," *Magn Reson Med*, vol. 48, no. 3, pp. 440–453, Sep. 2002.
- [99] A. Fuchs, P. Boesiger, R. F. Schulte, and A. Henning, "ProFit revisited," *Magn. Reson. Med.*, vol. 000, p. n/a–n/a, Mar. 2013.
- [100] E. Delikatny and J. Y. Watzl, "Application of 2D Magnetic Resonance Spectroscopy to the Study of Human Biopsies," in *Modern Magnetic Resonance SE - 115*, G. Webb, Ed. Springer Netherlands, 2006, pp. 1015–1025.
- [101] "OMS | Surpoids et obésité: définitions," WHO. [Online]. Available: http://www.who.int/dietphysicalactivity/childhood_what/fr/. [Accessed: 20-Nov-2014].
- [102] B. Leporq, S. A. Lambert, M. Ronot, V. Vilgrain, and B. E. Van Beers, "Quantification of the triglyceride fatty acid composition with 3.0 T MRI," *NMR Biomed.*, vol. 27, no. 10, pp. 1211–1221, Oct. 2014.
- [103] J. E. Hall, *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology: Enhanced E-book*. Elsevier Health Sciences, 2010.
- [104] C. Zancanaro, R. Nano, C. Marchioro, A. Sbarbati, A. Boicelli, and F. Osculati, "Magnetic resonance spectroscopy investigations of brown adipose tissue and isolated brown adipocytes," *J. Lipid Res.*, vol. 35, no. 12, pp. 2191–2199, Dec. 1994.
- [105] I. R. Corbin, E. E. Furth, S. Pickup, E. S. Siegelman, and E. J. Delikatny, "In vivo assessment of hepatic triglycerides in murine non-alcoholic fatty liver disease using magnetic resonance spectroscopy," *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Biol. Lipids*, vol. 1791, no. 8, pp. 757–763, Aug. 2009.
- [106] J. R. van Werven, H. A. Marsman, A. J. Nederveen, F. J. ten Kate, T. M. van Gulik, and J. Stoker, "Hepatic lipid composition analysis using 3.0-T MR spectroscopy in a steatotic rat model," *Magn. Reson. Imaging*, vol. 30, no. 1, pp. 112–121, Jan. 2012.
- [107] L. Baboi, L. Milot, C. Lartizien, C. Roche, J.-Y. Scoazec, F. Pilleul, and O. Beuf, "Synchronisation strategies in T2-weighted MR imaging for detection of liver lesions: Application on a nude mouse model," *Biomed. Imaging Interv. J.*, vol. 3, no. 4, Oct. 2007.
- [108] J. r. Garbow, M. Kataoka, and M. w. Flye, "MRI measurement of liver regeneration in mice following partial hepatectomy," *Magn. Reson. Med.*, vol. 52, no. 1, pp. 177–180, Jul. 2004.
- [109] H. Ratiney, A. Bucur, M. Sdika, O. Beuf, F. Pilleul, and S. Cavassila, "Effective voigt model estimation using multiple random starting values and parameter bounds settings for in vivo hepatic ^1H magnetic resonance spectroscopic data," in *5th IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro, 2008. ISBI 2008*, 2008, pp. 1529–1532.

- [110] A. M. Chow, D. S. Gao, S. J. Fan, Z. Qiao, F. Y. Lee, J. Yang, K. Man, and E. X. Wu, "Measurement of liver T_1 and T_2 relaxation times in an experimental mouse model of liver fibrosis," *J. Magn. Reson. Imaging JMRI*, vol. 36, no. 1, pp. 152–158, Jul. 2012.
- [111] K. N. Frayn, P. Arner, and H. Yki-Järvinen, "Fatty acid metabolism in adipose tissue, muscle and liver in health and disease," *Essays Biochem.*, vol. 42, pp. 89–103, 2006.
- [112] A. M. Stokes, Y. Feng, T. Mitropoulos, and W. S. Warren, "Enhanced Refocusing of Fat Signals using Optimized Multi-pulse Echo Sequences," *Magn. Reson. Med. Off. J. Soc. Magn. Reson. Med. Soc. Magn. Reson. Med.*, vol. 69, no. 4, pp. 1044–1055, Apr. 2013.
- [113] B. Gillet, S. Bléneau, and J.-C. Beloeil, "N.M.R. Characterization of phospholipids and triglycerides (in French)," *Analisis*, vol. 26, no. 3, pp. 26–33, Apr. 1998.
- [114] L. A. Menahan, "Age-related changes in lipid and carbohydrate metabolism of the genetically obese mouse," *Metabolism*, vol. 32, no. 2, pp. 172–178, Feb. 1983.
- [115] Q. Ye, C. F. Danzer, A. Fuchs, D. Vats, C. Wolfrum, and M. Rudin, "Longitudinal evaluation of hepatic lipid deposition and composition in ob/ob and ob/+ control mice," *NMR Biomed.*, vol. 26, no. 9, pp. 1079–1088, Sep. 2013.
- [116] Lindström and P. M., "The Physiology of Obese-Hyperglycemic Mice [*ob/ob* Mice]," *Sci. World J.*, vol. 7, pp. 666–685, 2007.
- [117] X.-G. Peng, S. Ju, F. Fang, Y. Wang, K. Fang, X. Cui, G. Liu, P. Li, H. Mao, and G.-J. Teng, "Comparison of brown and white adipose tissue fat fractions in ob, seipin, and Fsp27 gene knockout mice by chemical shift-selective imaging and ^1H -MR spectroscopy," *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.*, vol. 304, no. 2, pp. E160–E167, Jan. 2013.
- [118] M. Bourgeois, F. T. A. W. Wajer, D. van Ormondt, and D. Graveron-Demilly, "Reconstruction of MRI Images from Non-Uniform Sampling and Its Application to Intracranial Motion Correction in Functional MRI," in *Modern Sampling Theory*, J. J. Benedetto and P. J. S. G. Ferreira, Eds. Birkhäuser Boston, 2001, pp. 343–363.
- [119] C. H. Meyer and P. Hu, "Spiral parallel magnetic resonance imaging," *Conf. Proc. Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. Annu. Conf.*, vol. 1, pp. 369–371, 2006.
- [120] J. C. Hoch, "Maximum entropy signal processing of two-dimensional NMR data," *J. Magn. Reson.* 1969, vol. 64, no. 3, pp. 436 – 440, 1985.
- [121] D. Merhej, H. Ratiney, C. Diab, M. Khalil, M. Sdika, and R. Prost, "Fast multidimensional NMR spectroscopy for sparse spectra," *NMR Biomed.*, vol. 27, no. 6, pp. 640–655, Jun. 2014.
- [122] S. Ramadan and C. E. Mountford, "Adiabatic localized correlation spectroscopy (AL-COSY): application in muscle and brain," *J. Magn. Reson. Imaging JMRI*, vol. 33, no. 6, pp. 1447–1455, Jun. 2011.
- [123] L. Frydman, A. Lupulescu, and T. Scherf, "Principles and features of single-scan two-dimensional NMR spectroscopy," *J Am Chem Soc*, vol. 125, no. 30, pp. 9204–9217, Jul. 2003.
- [124] M. A. Thomas, N. Wyckoff, K. Yue, N. Binesh, S. Banakar, H.-K. Chung, J. Sayre, and N. DeBruhl, "Two-dimensional MR spectroscopic characterization of breast cancer in vivo," *Technol. Cancer Res. Treat.*, vol. 4, no. 1, pp. 99–106, Feb. 2005.
- [125] S. S. Velan, C. Durst, S. K. Lemieux, R. R. Raylman, R. Sridhar, R. G. Spencer, G. R. Hobbs, and M. A. Thomas, "Investigation of muscle lipid metabolism by localized one- and two-dimensional MRS techniques using a clinical 3T MRI/MRS scanner," *J Magn Reson Imaging*, vol. 25, no. 1, pp. 192–199, Jan. 2007.

- [126]D. Kim, D. Margolis, L. Xing, B. Daniel, and D. Spielman, "In vivo prostate magnetic resonance spectroscopic imaging using two-dimensional J-resolved PRESS at 3 T," *Magn Reson Med*, vol. 53, no. 5, pp. 1177–1182, May 2005.
- [127]S. Mohajeri, O. B. Ijare, T. Bezabeh, S. B. King, M. A. Thomas, G. Minuk, J. Lipschitz, I. Kirkpatrick, M. Smith, and I. C. P. Smith, "In vivo ^1H MRS of human gallbladder bile at 3 T in one and two dimensions: detection and quantification of major biliary lipids," *NMR Biomed.*, vol. 27, no. 10, pp. 1192–1202, Oct. 2014.

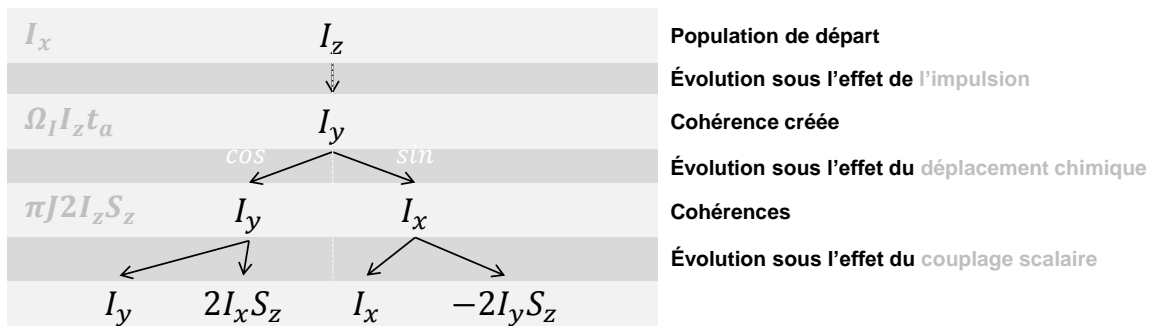
ANNEXES

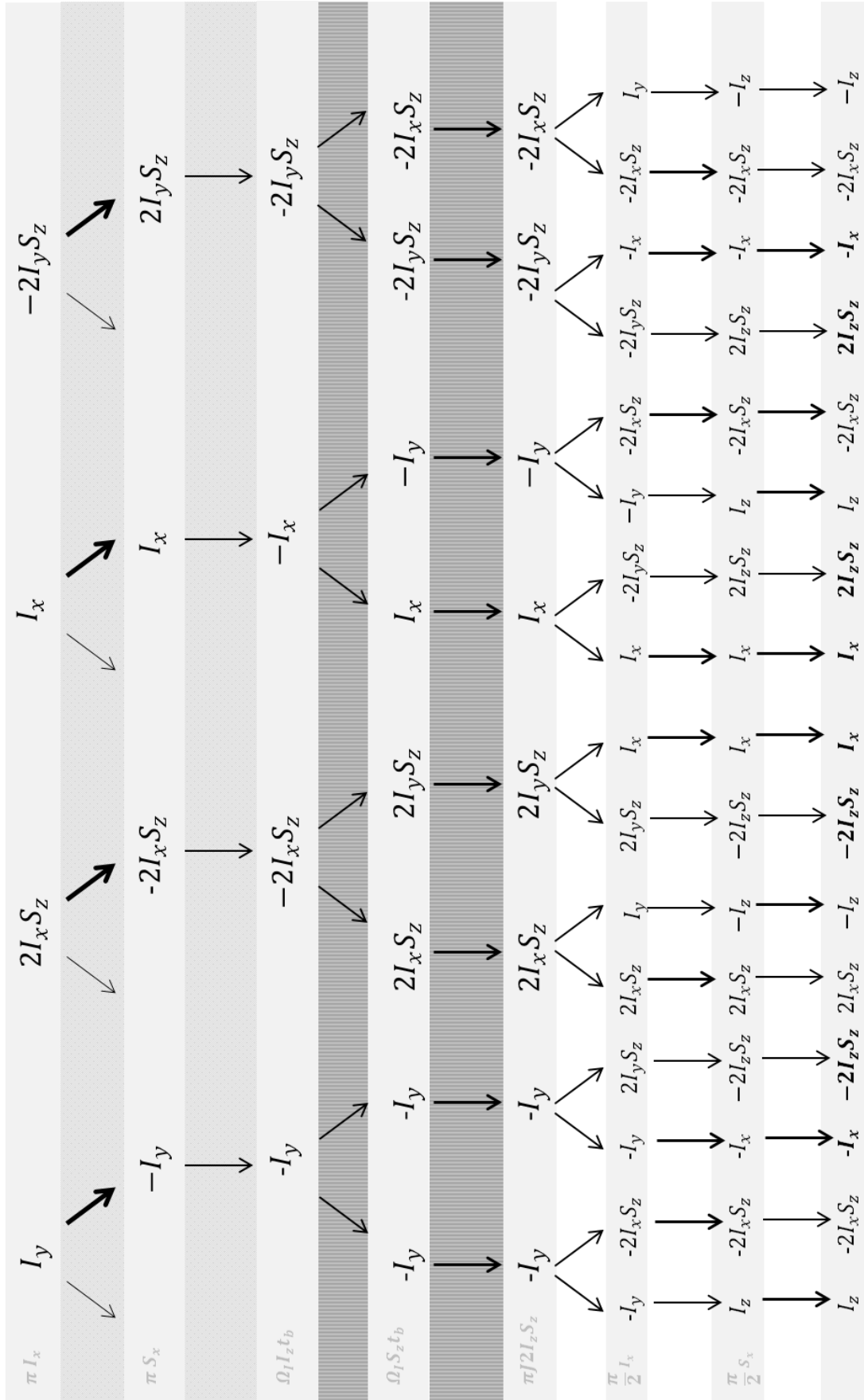
ANNEXE A : Formalisme des opérateurs produits pour les séquences L-COSY et L-CTCOSY pour un système de deux spins.

Soit deux spins I et S. A ces spins sont associés des matrices densités dont l'évolution est donnée par l'équation de Louville-Newman. Une résolution de l'évolution de ce système de spin est montrée ici en utilisant le formalisme des opérateurs produits pour les séquences LCOSY et LCTCOSY caractérisé par un schéma de séquence : $90^\circ - t_a - 180^\circ - t_{ab} - 90^\circ - t_2$

Avec $t_a = \frac{t_1}{2} + t_c$, $t_b = \frac{t_1}{2} + t_c$ et $t_a + t_b = t_c$ pour la LCTCOSY et t_a et $t_b = t_1$ pour la LCOSY.

La première impulsion de 90° va exciter la population de spin I. Cette dernière va évoluer sous l'influence des effets dus à l'impulsion, au déplacement chimique et du couplage scalaire. Cette évolution peut être représentée sous la forme d'un arbre d'évolution de l'Hamiltonien. Pendant la durée t_a , on aura la création de différente cohérence modulées par une partie en cosinus et sinus. Dans la représentation choisie, les branches allant vers la droite représentent la partie en cosinus et celle de gauche en sinus.





En remontant les branches de l'arbre, on obtient l'expression du signal détecté :

$$\begin{aligned}
& I_x \cos(\pi J t_1) (\sin(\Omega_I t_1) \cos(\Omega_I t_a) \cos(\Omega_I t_b) \\
& + \cos(\Omega_I t_1) \sin(\Omega_I t_a) \cos(\Omega_I t_b) \\
& - \cos(\Omega_I t_1) \cos(\Omega_I t_a) \cos(\Omega_I t_b) \\
& + \sin(\Omega_I t_1) \sin(\Omega_I t_a) \sin(\Omega_I t_b))
\end{aligned}$$

Pour la LCOSY l'expression du signal sera :

$$\begin{aligned}
& I_x \cos(\pi J t_1) (\sin(\Omega_I t_1) \cos(\Omega_I t_a) \cos(\Omega_I t_b) \\
& + \cos(\Omega_I t_1) \sin(\Omega_I t_a) \cos(\Omega_I t_b) \\
& - \cos(\Omega_I t_1) \cos(\Omega_I t_a) \cos(\Omega_I t_b) \\
& + \sin(\Omega_I t_1) \sin(\Omega_I t_a) \sin(\Omega_I t_b))
\end{aligned}$$

Pour la LCTCOSY :

$$-I_x \cos(\pi J t_c) (\sin(\Omega_I t_1))$$

Où l'on voit apparaître un terme constant lié à la tc lié au couplage scalaire.

Récapitulatif des Hamiltonien utilisés dans le formalisme des opérateurs produit et leur action sur les différents opérateurs pour un système de deux spins I et S.

Matrice densité de départ		Opérateurs Hamiltoniens d'évolution			Opérateurs Hamiltoniens d'impulsions			
		I_z	S_z	$2I_zS_z$	I_x	S_x	I_y	S_y
Population	I_z				I_y	$-I_x$		
	S_z						S_y	$-S_x$
	$2I_zS_z$				$2I_yS_z$	$-2I_xS_z$	$2I_zS_y$	$-2I_zS_x$
Cohérence 1 quantum en phase	I_x	$-I_y$		$-2I_yS_z$		I_z		
	I_y	I_x		$2I_xS_z$	$-I_z$			
	S_x		$-S_y$	$-2I_zS_y$				S_z
	S_y		S_x	$2I_zS_x$			$-S_z$	
Cohérence 1 quantum anti-phase	$2I_xS_z$	$-2I_yS_z$		$-I_y$		$2I_zS_z$		$-2I_xS_x$
	$2I_yS_z$	$2I_xS_z$		I_x	$-2I_zS_z$			$-2I_yS_x$
	$2I_zS_x$		$-2I_zS_y$	$-S_y$	$2I_yS_x$	$-2I_xS_x$		$2I_zS_z$
	$2I_zS_y$		I_zS_x	S_x	$2I_yS_y$	$-2I_xS_y$	$-2I_zS_z$	
Cohérence multi-quanta	$2I_xS_x$	$-2I_yS_x$	$-2I_xS_y$			$2I_zS_x$		$2I_xS_z$
	$2I_xS_y$	$-2I_yS_y$	$2I_xS_x$			$2I_zS_y$	$-2I_xS_z$	
	$2I_yS_x$	$2I_xS_x$	$-2I_yS_y$		$-2I_zS_x$			$2I_yS_z$
	$2I_yS_y$	$2I_xS_y$	$2I_yS_x$		$-2I_zS_y$		$-2I_yS_z$	

ANNEXE B : Simulation sous SPINACH

Code SPINACH développé pour la séquence PRESS :

```
function fid=PRESS(spin_system,parameters)
%% Creation de l'infrastructure interne de la simulation
% Rapport en sortie de fonction
report(spin_system,'press: computing PRESS...'); sequence_report(spin_system,parameters);
% Hypothèse sur le système de spin
spin_system=secularity(spin_system,'nmr');
% Assemblage du Liouvillien : Hamiltonien du système de spin converti pour l'espace de
Liouville + phénomène de relaxation et temps de corrélation du système de spin (défaut).
L=h_superop(spin_system)+1i*r_superop(spin_system);
% Évolution du fid à observer.
timestep = 1/parameters.sweep; n2 = parameters.npoints_f2 - 1;
TE1 = parameters.TE1 ; TE2 = parameters.TE2 ;
% Phase du récepteur
coil=state(spin_system,'L+',parameters.spins);
% état de départ du système de spin
rho=equilibrium(spin_system);
%Description des opérateurs d'impulsion.
Lp=operator(spin_system,'L+',parameters.spins); Lx=(Lp+Lp')/2; Ly=(Lp-Lp')/2i;
%% simulation PRESS
rho_stack = step(spin_system,Lx,rho,pi/2); %Impulsion 90 °
%Evolution durant TE1/2
rho_stack = evolution(spin_system,L,coil,rho_stack, TE1./2, 1, 'final');
rho_stack = step(spin_system,Ly,rho_stack,pi);
rho_stack = evolution(spin_system,L,coil,rho_stack, TE1./2, 1, 'final');
%Evolution durant TE1/2, TE2/2
rho_stack = evolution(spin_system,L,coil,rho_stack, TE2./2, 1, 'final');
rho_stack=step(spin_system,Lx,rho_stack,pi);
rho_stack = evolution(spin_system,L,coil,rho_stack, TE2./2, 1, 'final');
%% FID PRESS SIMULE
fid=evolution(spin_system,L,coil,rho_stack, timestep, n2, 'observable');
end
```


Exemple de code SPINACH développé pour la séquence LCOSY :

```
function fid= Lcosy(spin_system,parameters)
%% Creation de l'infrastructure interne de la simulation
    % Rapport en sortie de fonction
    report(spin_system,'press: computing PRESS...');
    sequence_report(spin_system,parameters);
    % Hypothèse sur le système de spin
    spin_system=secularity(spin_system,'nmr');
    % Assemblage du Liouvillien : hamiltonien du système de spin converti pour l'espace de
    Liouville+ phénomène de relaxation et temps de corrélation du système de spin (default).
    L=h_superop(spin_system)+1i*r_superop(spin_system);
    timestep = 1/parameters.sweep; n2 = parameters.npoints_f2 - 1;
    TE1 = parameters.TE1 ; TE2 = parameters.TE2 ;
    % Phase du récepteur
    coil=state(spin_system,'L+',parameters.spins);
    % état de départ du système de spin
    rho=equilibrium(spin_system);
    %Description des opérateurs d'impulsion.
    Lp=operator(spin_system,'L-',parameters.spins);
    Lm=operator(spin_system,'L+',parameters.spins);
%% simulation LCOSY
rho_stack=step(spin_system,(Lp+Lp')/2,rho,pi/2); %90 °
rho_stack = evolution(spin_system,L,coil,rho_stack, TE1./2, 1, 'final');
rho_stack=step(spin_system,(Lm+Lm')/2,rho_stack,pi) - step(spin_system,(Lm-
Lm')/2i,rho_stack,pi); %180 ° + création des cohérences
rho_stack = evolution(spin_system,L,coil,rho_stack, TE1./2, 1, 'final');
rho_stack=evolution(spin_system,L,[],rho_stack, timestep1, n1, 'trajectory');
rho_stack = evolution(spin_system,L,coil,rho_stack, TE2./2, 1, 'final');
rho_stack = conj(rho_stack);
%Choix de la coherence
rho_stack = coherence(spin_system,rho_stack,-1,'1H');
rho_stack=step(spin_system,(Lp+Lp')/2,rho_stack,pi/2)-step(spin_system,(Lp-
Lp')/2i,rho_stack,pi/2); %90 °
rho_stack = evolution(spin_system,L,coil,rho_stack, TE2./2, 1, 'final');
%% FID LCOSY SIMULE
fid=evolution(spin_system,L,coil,rho_stack, timestep, n2, 'observable');
end
```